



Imagerie polarimétrique : développements instrumentaux et applications biomédicales.

Makrina Anastasiadou

► To cite this version:

Makrina Anastasiadou. Imagerie polarimétrique : développements instrumentaux et applications biomédicales.. Physique Médicale [physics.med-ph]. Ecole Polytechnique X, 2007. Français. NNT : . pastel-00003712

HAL Id: pastel-00003712

<https://pastel.archives-ouvertes.fr/pastel-00003712>

Submitted on 23 Jul 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

présentée pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'ECOLE POLYTECHNIQUE

Spécialité : Physique

par

Makrina ANASTADIADOU

**Imagerie Polarimétrique :
Développements Instrumentaux et
Applications Biomédicales**

Date de soutenance : le 11 décembre 2007

Devant le jury composé de :

| | |
|-------------------------------|--------------------|
| Claude BOCCARA | Président du jury |
| Geneviève BOURG-HECKLY | Rapporteur |
| Antonello DE MARTINO | Directeur de thèse |
| Morten KILDEMO | Rapporteur |
| Bernard QUERLEUX | Examineur |
| Jihad ZALLAT | Examineur |
| Joseph ZYSS | Examineur |

LABORATOIRE DE PHYSIQUE DES INTERFACES ET DES COUCHES MINCES,
CNRS UMR 7647, ECOLE POLYTECHNIQUE

Imagerie Polarimétrique : Développements Instrumentaux et Applications Biomédicales

Makrina Anastasiadou

Paris 2007

Dédiée à Ioanna, Sofia, Alexandra et Yannis

Remerciements

Officiels

En premier lieu, je remercie Bernard Dréwillon, directeur du laboratoire de Physique des Interfaces et des Couches Minces de l'Ecole Polytechnique pour m'avoir permis d'effectuer ma thèse au sein de son laboratoire si dynamique.

Je tiens ensuite à remercier Antonello De Martino, mon directeur de thèse, pour m'avoir accueillie dans son équipe. Son expérience fascinante en polarimétrie, ainsi que sa manière pédagogique d'enseigner ont fait qu'il fut très agréable de travailler avec lui.

Je dois également remercier Geneviève Bourg-Heckly, Claude Boccara, Morten Kildemo, Bernard Querleux, Jihad Zallat et Joseph Zyss, d'avoir accepté de faire partie de mon jury de soutenance, et pour l'intérêt qu'ils ont manifesté envers mon travail. En particulier, merci à Geneviève Bourg-Heckly et Morten Kildemo d'avoir consenti à examiner et référer ce travail.

Je n'oublie pas l'Ecole Doctorale de l'Ecole Polytechnique, notamment son directeur, Michel Rosso, sans l'accord duquel cette thèse n'aurait pas pu se réaliser. Je remercie également Christine Ferret, Audrey Lemaréchal, Dominique Conne et en particulier Fabrice Baronnet, pour leur disponibilité et leur sourire à mes innombrables questions.

Hospitaliers

J'ai eu la chance durant ce travail de thèse de rencontrer un grand nombre de personnes du milieu hospitalier. Je tiens à remercier :

Dr. Laurent Schwartz, qui m'a initiée à la pathologie du cancer du col de l'utérus. J'ai beaucoup apprécié toutes nos conversations. Sache que je suis une grande fan de tes livres !

Dr. Bernard Huynh, avec qui nous avons passé d'innombrables heures en consultations polarimétriques, en essayant de prouver que tout ce travail de thèse a un sens dans la vraie vie. Merci encore pour toutes nos discussions en gynécologie en dehors de ma thèse !

Dr. André Nazac, pour son enthousiasme, son énergie et son encouragement tout au long de ce projet.

Dr. Pierre Validire pour son investissement concernant tout le travail chronophage ex vivo.

Dr. Henri Cohen pour nous avoir accueillis dans son unité.

Je n'oublie pas Dr. Alain Mallet et Anne Bissery pour la prise en charge de l'organisation de l'essai clinique.

Dr. Marie Vercambre, avec laquelle nous avons partagé l'assistance technique au début

de l'essai clinique et

Kubéraka Mariampillai, avec qui nous avons interagi concernant l'organisation au tout début de cet essai.

Syndromiques

Quant au diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aigue je tiens à remercier :

Diane Agay, Yves Chancerelle, ainsi que tous les autres vétérinaires du Centre de Recherche du Service de Santé des Armées pour leur accueil toujours chaleureux et leur soutien systématique à nos expériences. Cela nous a permis de travailler dans les meilleures conditions et de manière très agréable. Je garde de très bons souvenirs de Grenoble.

Bernard Clairac de nous avoir invités à participer à ce projet.

Marc Benderitter pour la gestion du projet.

Je tiens à remercier plus particulièrement Dr. Hervé Carsin, de m'avoir initiée aux enjeux et symptômes de cette pathologie. Cela m'a permis par la suite d'interpréter plus facilement mes résultats.

Je n'oublie pas Odile Carvalho, avec qui nous avons partagé notre petite vingtaine de missions à Grenoble ! C'est dommage que nous n'ayons pas eu le temps d'aller skier !

Mécaniques

Un grand merci à Dominique Clement pour son investissement rigoureux dans le développement du montage polarimétrique du colposcope. Sans lui ce projet n'aurait pas pu aboutir.

Egalement un grand merci à Frédéric Liège pour sa forte contribution à la gestion de la caméra et son aide en programmation Delphi. Grâce à lui nous avons réussi à avoir une interface très performante. Je me suis beaucoup amusée lors des soudures !

Je remercie également Dennis Cattelan pour son intérêt pour notre travail. Merci pour les polaires Jobin-Yvon !

Camaradiques

Parmi les personnes avec qui j'ai étroitement travaillé sur l'acquisition et le traitement de mes images, je dois remercier spécialement Hyun-Jong Kim de m'avoir encadré pendant mes premiers jours en polarimétrie, et de m'avoir accompagnée avec une volonté infatigable dans toutes ces missions à Grenoble !

Un grand merci à Steve Guyot, d'avoir contribué à la définition des méthodologies et pris en charge le développement des interfaces pour le recalage et le traitement de mes images.

Matthieu Petremand, avec qui nous avons passé deux semaines à Strasbourg pour appliquer son logiciel sur mes images et interpréter les résultats !

Optiques

Au Laboratoire de Physique des Interfaces et des Couches Minces, je dois encore remercier Razvigor Ossikovski pour toute la partie décomposition dans ma thèse. Je ressens une profonde estime et admiration pour sa maîtrise de l'algèbre des matrices de Mueller.

Enric Garcia-Caurel, qui était toujours présent avec ses conseils optiques et autres tout au long de ma thèse.

Sami Ben-Hatit, mon co-thésard, d'avoir partagé la salle noire de manips avec moi, ainsi que pour sa contribution logistique aux décompositions, ce qui m'a permis d'exploiter pleinement mes résultats.

Tatiana Novikova pour son support continu envers notre équipe. Merci beaucoup pour les articles.

Je n'oublie pas Quang Nguyen, qui m'a encadré quant à l'utilisation du premier polarimètre au tout début de ma thèse.

PICM-iques

Parmi les autres membres du Laboratoire de Physique des Interfaces et des Couches Minces :

Un grand merci à Laurence Corbel d'avoir pris en charge de la manière la plus efficace et rapide qui soit toutes mes missions et autres tâches administratives.

Chantal Geneste pour avoir toujours été si gentille et si chaleureuse, et avoir fait le maximum pour passer rapidement toutes mes commandes ! Merci encore d'avoir retenu le courrier pour l'expédition de mon manuscrit !

Jean-Luc Moncel et son équipe : Cyril Jadaud, Olivier Godde, Guillaume Largeau, Jérôme Charliac et Frédéric Farci. Si je retournais au PICM, je me serais intégrée à votre équipe ! Cyril, merci encore de m'avoir accompagné sur ma formation sur la perceuse ! J'adore la mécanique !

Laurent Eude, avec qui nous avons expérimenté le même parcours en chimie-physique. Merci énormément pour nos conversations et tes conseils. Tu es vraiment un gars bien, même si tu ne veux pas le manifester.

Erik Johnson pour son humeur agréable, son humour intelligent, son appréciation du tempérament grec et les interminables journées de comptage.

Arnaud-Julien Guilley pour sa bonne humeur et ses surprises.

Roelene Botha pour sa douceur, son sourire et sa disponibilité de tous les instants.

Jean-Eric Bourée pour son admiration pour la Grèce et ses histoires inoubliables.

Pere Roca i Cabarrocas pour son sourire constant, sa bonne humeur et sa remarquable capacité à gérer une équipe et des projets si nombreux. Merci encore pour l'organisation des séminaires internes. Ta persistance pour que j'y participe m'a permis de m'entraîner un certain nombre de fois bien avant ma soutenance.

Marc Chatelet pour les déjeuners à la cantine et l'organisation du séminaire du laboratoire à Dinard. J'ai beaucoup apprécié le casino et la mer ces jours-là !

Pavel Bulkin pour sa compréhension et son appréciation envers les ingénieurs chimistes.

Didier Pribat pour son goût pour l'opéra. Cela change de l'ambiance au labo...

Laurent Philippe pour les billets de rugby !

Je n'oublie pas les ex-PICM Régis Bisson et Jérôme Damon-Lacoste, deux personnages désormais suisses, qui ont rendu mon séjour au PICM plus divertissant !

Celine Bernon d'avoir partagé avec moi le bureau lors des premières années de ma thèse. Nous n'avons pas réussi à le décorer comme un bureau de femmes !

Merci encore à toutes les personnes que j'ai eu l'occasion de rencontrer au PICM pendant ces trois ans et qui ont fait mon séjour plus agréable.

Finalistes

Lors des moments durs de fin de thèse et de rédaction, je tiens à remercier :

Alexandre, qui s'est investi à ma re-initiation à LaTeX ! Merci pour ton intro-chapter !

Laurent Kroely et Martin Labrune pour leur aide à la bibliographie en LaTeX, même si nous n'avons pas pu finalement la mettre en place.

Ning Ning et Bicher Hajibrahim pour leurs suggestions quant au format de la première page de mon manuscrit.

Tran Thuat Nguyen d'avoir partagé les soirées interminables au laboratoire en fin de rédaction. Je ne dirai à personne pour les pizzas !

Yassine Djeridane de m'avoir accompagnée au RER lors des horaires nocturnes.

Rosaria Antonelli pour sa gentille disponibilité pendant les derniers jours de ma thèse. Merci encore d'avoir permis à Antonello de s'occuper prioritairement de mon cas aux moments urgents.

Ingrid Stenger d'avoir partagé le bureau les derniers moments de ma thèse. Merci encore pour tous les conseils.

Emilie Herault pour son encouragement les derniers jours avant ma soutenance. Je me suis également beaucoup amusée quand nous avons partagé la petite chambrette à Stockholm !

Shaima Vendrenne pour son sourire et sa proposition de coller avec Ingrid Stenger les flèches marquant l'ampli Becquerel le jour de ma soutenance.

Bicher Hajibrahim et Grygoriy Dolgonos d'avoir pris entièrement en charge l'organisation de mon pot de soutenance ! Merci énormément Bicher pour tous ces déplacements !

Enfin, un grand merci à Yvan Bonnassieux de s'être proposé si gentiment pour la première lecture de mon manuscrit. Merci encore pour le covoiturage, notamment pendant les jours de grève ! Tu m'as sauvée plusieurs fois.

Et je n'oublie pas Gary Kitchner Rose pour avoir été là aux derniers moments de folie lors de l'impression !

Enseignementaux

Parmi mes enseignants, je tiens à remercier :

Murat Boratav, le responsable de mon DEA et la première personne avec qui j'ai pris contact pour mes études en France. J'ai été très émue de vous voir assister à ma soutenance.

Athanasios G. Konstandopoulos, directeur du Aerosol and Particle Laboratory, Centre for Research and Technology Hellas, et mon premier mentor en recherche. C'est à lui que je dois la chercheuse que je suis aujourd'hui.

Gerasimos Kourouklis, mon professeur de physique à l'école d'ingénieur chimiste de m'avoir guidée pendant mon passage de la chimie en physique, ainsi que d'avoir accepté de consacrer des heures et des heures de cours pour améliorer mon optique.

Marie-Claude Labastie, Christine Capocci, Claude Malvy, ainsi que tous mes enseignants à l'Institut de Formation Supérieure BioMédicale de m'avoir initiée aux grandes questions de biologie et de médecine. C'est à eux que je dois la meilleure compréhension et exploitation de l'aspect biomédicale de ma thèse.

Amicaux

Je n'oublie pas tous mes amis de Grèce, ainsi que tous ceux que j'ai eu la chance de rencontrer en France [Nora, Elisa, Waydi, Isa et la liste ne se termine pas ici....]. Merci de m'avoir constamment soutenue, pendant, et en dehors de ma thèse. Vous avez fait de mon séjour en France un moment agréable.

Familiaux

Un grand merci à ma famille de m'avoir constamment soutenue pendant ces quatre (avec le DEA) années en France.

Une attention toute particulière à ma douce mère pour avoir pris en charge la préparation gastronomique et la co-direction de l'organisation artistique de mon pot de soutenance au moment où je ne faisais que répéter.

Enfin, je tiens à remercier tout spécialement Maria et Georges Fraser, ma tante et mon oncle, mes deux invités VIP, d'être venus de l'Angleterre pour assister à ma soutenance. Votre geste m'a beaucoup touché et j'ai été vraiment très émue de vous avoir à mes côtés en ce moment marquant de ma vie.

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Remerciements | i |
| Introduction | xi |
| I Principes Théoriques Fondamentaux | 1 |
| 1 Les formalismes de la polarisation | 3 |
| 1.1 Polarisation d'une onde électromagnétique | 3 |
| 1.1.1 Description intuitive | 3 |
| 1.1.2 Etats totalement polarisés. Vecteur de Jones | 4 |
| 1.1.3 Cas général. Vecteur de Stokes | 6 |
| 1.1.4 Réalisabilité physique d'un vecteur de Stokes | 7 |
| 1.1.5 Sphère de Poincaré | 7 |
| 1.2 Transformations de l'état de polarisation par un composant optique . . . | 9 |
| 1.2.1 Composants non dépolarisants. Matrice de Jones | 9 |
| 1.2.2 Cas général. Matrice de Mueller | 10 |
| 1.2.3 Matrice de cohérence. Réalisabilité physique et caractère dépolarisant ou non d'une matrice de Mueller | 11 |
| 1.2.4 Définition des principales propriétés polarimétriques | 13 |
| 1.3 Composants optiques élémentaires de polarisation | 15 |
| 1.3.1 Dichroïque ou Diattenuateur | 15 |
| 1.3.2 Déphaseur ou Retardateur | 17 |
| 1.3.3 Dépolariseur | 19 |
| 1.3.4 Retardateur linéaire dichroïque | 19 |
| 1.4 Conclusion | 20 |
| 2 Analyse de la matrice de Mueller | 21 |
| 2.1 Décomposition polaire classique | 22 |
| 2.1.1 Calcul des matrices élémentaires | 22 |
| 2.1.2 Ordre de multiplication des matrices | 23 |
| 2.2 Décomposition "inverse" | 24 |
| 2.3 Validation expérimentale sur des échantillons simples | 25 |
| 2.3.1 Imageur de Mueller et échantillons | 25 |

| | | |
|---|---|-----------|
| 2.3.2 | Methode d'analyse des données | 28 |
| 2.3.3 | Résultats | 28 |
| 2.4 | Intérêt potentiel des décompositions sur des applications biomédicales . . | 32 |
| 2.5 | Conclusion | 34 |
| II Instrumentation en Imagerie Polarimétrique | | 35 |
| 3 Le polarimètre imageur de Mueller en réflexion | | 37 |
| 3.1 | Principe de la mesure | 37 |
| 3.2 | Critère général d'optimisation des matrices W et A | 38 |
| 3.3 | Générateurs et analyseurs d'états de polarisation à cristaux liquides néma- tiques | 40 |
| 3.3.1 | Lames retard variables à cristaux liquides nématiques | 40 |
| 3.3.2 | Configurations polarimétriques optimisées | 42 |
| 3.3.3 | Justification du choix des nématiques | 44 |
| 3.4 | Montage expérimental | 44 |
| 3.5 | Etalonnage | 46 |
| 3.5.1 | Mesures effectués avec les échantillons de référence | 46 |
| 3.5.2 | Calcul de la matrice de modulation W | 48 |
| 3.5.3 | Calcul de la matrice de calibration A | 49 |
| 3.5.4 | Choix des éléments de référence | 49 |
| 3.6 | Optimisation expérimentale du polarimètre | 50 |
| 3.6.1 | Minimisation du conditionnement des matrices A et W | 50 |
| 3.6.2 | Prise en compte des variations spatiales des matrices W et A . . | 51 |
| 3.6.3 | Correction des fluctuations de l'intensité de la source | 53 |
| 3.6.4 | Correction de la linéarité de la caméra | 63 |
| 3.6.5 | Correction des effets de variation de la température | 70 |
| 3.7 | Evaluation de la précision du polarimètre | 71 |
| 3.8 | Conclusion | 76 |
| III Applications Biomédicales | | 79 |
| 4 Application au diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aiguë | | 81 |
| 4.1 | La peau : anatomie et propriétés optiques | 82 |
| 4.1.1 | La structure de la peau | 82 |
| 4.1.2 | Les propriétés optiques de la peau | 84 |
| 4.2 | Syndrome aigu d'irradiation : descriptif de la maladie | 94 |
| 4.2.1 | Les effets de l'irradiation sur l'organisme | 94 |
| 4.2.2 | Syndrome cutané radio-induit | 95 |
| 4.3 | Expérimentation pré-clinique | 99 |
| 4.4 | Techniques existantes pour le diagnostic du syndrome cutané aigu | 101 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.5 | La polarimétrie pour le diagnostic du syndrome cutané radio-induit . . . | 102 |
| 4.6 | Notre modèle expérimental | 103 |
| 4.7 | Images polarimétriques ex-vivo sur des biopsies | 105 |
| 4.7.1 | Mesures | 105 |
| 4.7.2 | Méthode d'analyse d'images | 106 |
| 4.7.3 | Résultats | 109 |
| 4.8 | Images polarimétriques in-vivo | 113 |
| 4.8.1 | Méthode d'analyse d'images | 114 |
| 4.8.2 | Résultats | 119 |
| 4.9 | Conclusion | 129 |
| 5 | Application au diagnostic du cancer du col de l'utérus | 131 |
| 5.1 | Cancer du col de l'utérus : descriptif de la maladie | 132 |
| 5.2 | Diagnostic du cancer du col de l'utérus : la pratique actuelle | 134 |
| 5.2.1 | Indicateurs de performance d'un examen diagnostique | 134 |
| 5.2.2 | Examen cytologique | 135 |
| 5.2.3 | Examen colposcopique | 136 |
| 5.2.4 | Biopsie | 139 |
| 5.2.5 | Exérèse chirurgicale | 139 |
| 5.3 | Les nouvelles techniques optiques de diagnostic du cancer du col de l'utérus | 141 |
| 5.3.1 | Critères d'évaluation d'une nouvelle technologie | 141 |
| 5.3.2 | Biopsie optique par mesure de fluorescence | 142 |
| 5.3.3 | Biopsie optique par mesure de réflectance | 145 |
| 5.3.4 | Combinaison des mesures de fluorescence et de réflectance | 148 |
| 5.3.5 | Comparaison des différentes techniques, conclusions et perspectives | 150 |
| 5.4 | L'imagerie polarimétrique pour le diagnostic du cancer du col de l'utérus | 152 |
| 5.5 | Développement du colposcope polarimétrique en DOP | 157 |
| 5.5.1 | Cahier des charges | 157 |
| 5.5.2 | Cristaux liquides ferroélectriques | 158 |
| 5.5.3 | Le système opto-mécanique | 160 |
| 5.5.4 | Choix des autres composants optiques | 161 |
| 5.5.5 | Evaluation de la précision de la mesure du DOP | 164 |
| 5.5.6 | Validation de l'imagerie DOP in-vivo | 166 |
| 5.5.7 | Interface utilisateur du colposcope polarimétrique | 169 |
| 5.6 | Essai clinique | 171 |
| 5.6.1 | Résumé du protocole | 171 |
| 5.6.2 | Images en degré de polarisation in-vivo | 172 |
| 5.6.3 | Images de Mueller des pièces opératoires ex vivo | 173 |
| 5.7 | Conclusion | 178 |
| | Conclusions | 179 |

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|------------|
| Annexe A : Protocole de l'essai clinique | 189 |
| Annexe B : Mise en place d'une expérience de caractérisation des milieux diffusants | 193 |
| Annexe C : Glossaire Biomédicale | 197 |

Introduction

Les méthodes optiques, telles que la fluorescence, la tomographie par cohérence optique (OCT), l'imagerie confocale, l'imagerie en régime de diffusion complète etc., font l'objet depuis deux décennies d'une activité de recherche et développement intense dans le domaine biomédical, où leur utilisation dans la pratique clinique est de plus en plus répandue. Les raisons de cet engouement se comprennent facilement : les techniques optiques peuvent être rapides, non invasives et sans risque pour le patient.

Les techniques d'*imagerie* (notamment en trois dimensions) et de spectroscopie fournissent respectivement des données sur la structure et la composition chimique des tissus ; il est donc naturel qu'elles aient reçu une attention particulière. Ceci étant, les contraintes liées à l'utilisation dans la pratique médicales peuvent limiter le champ d'application de techniques par ailleurs très performantes. Par exemple, une technique de microscopie in vivo très performante peut s'avérer inadaptée à la pratique médicale courante, en raison de la petitesse du champ imagé.

Un autre aspect essentiel est le coût de technique, qui doit être en rapport avec les enjeux médicaux. Ce point est particulièrement important dès qu'il est question de prévention par des examens systématiques, comme le dépistage du cancer du col utérin par frottis, puis colposcopie : l'impact d'une technologie donnée en termes de santé publique dépendra évidemment des performances en termes médicaux (et notamment de la sensibilité et de la spécificité pour des techniques de diagnostic), mais également de la possibilité de diffuser assez largement cette technique pour que le plus grand nombre de personnes possible (y compris ailleurs que dans les pays les plus développés) puissent en bénéficier. Le besoin de techniques nouvelles, soit plus performantes, soit moins coûteuses que les techniques établies n'est donc pas près de disparaître.

Comparativement aux méthodes évoquées plus haut, la polarimétrie a reçu beaucoup moins d'attention dans le domaine biomédical, alors qu'elle est très largement utilisée (sous une forme restreinte appelée ellipsométrie) dans les laboratoires de recherche sur les matériaux et dans l'industrie, notamment en microélectronique, pour la caractérisation détaillée (au dixième de nanomètre près) de films minces mono- ou multi-couches.

Cette situation apparemment paradoxale trouve certainement son origine dans la forte *dépolarisation* qui se produit la plupart du temps dans les tissus biologiques :

- D'une part, l'information contenue dans la polarisation peut paraître trop dégradée et finalement peu compétitive par rapport à l'information spectroscopique ou spatiale.
- D'autre part l'ellipsométrie classique, qui a eu le succès que l'on sait pour la caractérisation de couches minces et a donc atteint un niveau remarquable de maturité, peut difficilement être mise en œuvre dans ce contexte. Il y a donc un réel problème d'instrumentation dès lors qu'on veut caractériser complètement des objets partiellement dépolarisants, par polarimétrie de Mueller.

Quelques études prometteuses ont pourtant été menées, notamment en dermatologie, où les mélanomes ou d'autres lésions (lupus) ont pu être caractérisés par des indicateurs polarimétriques divers (dépolariation et biréfringence) [1][2], offrant ainsi une possibilité de diagnostic et de délimitation de la zone pathologique intéressantes. Ceci étant, ces études ont été menées par une équipe de spécialistes de l'instrumentation polarimétrique dont le développement par les méthodes habituelles fondées sur une modélisation détaillée du fonctionnement de l'instrument reste difficile et contraignant.

Le Laboratoire de Physique des Interfaces et des Couches Minces a une longue histoire d'utilisation de l'ellipsométrie pour la caractérisation des couches minces. Une approche originale y a été développée pour la mise au point et l'étalonnage de polarimètres de Mueller beaucoup plus polyvalents et plus faciles d'utilisation, notamment en imagerie, que les systèmes traditionnels, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives, notamment dans le domaine biomédical, qui ont commencé à être explorées ces trois dernières années.

Le travail présenté dans ce mémoire comporte trois volets essentiels :

1. Un volet instrumental, portant sur l'optimisation d'un polarimètre de Mueller imageur multilongueur d'onde travaillant en réflexion.
2. L'évaluation de l'imagerie de Mueller pour le *diagnostic du syndrome cutané radio-induit*, dans la perspective d'améliorer la prise en charge des accidents d'irradiation, heureusement fort rares mais très difficiles à gérer sur le plan thérapeutique.
3. L'évaluation de l'imagerie polarimétrique pour le diagnostic du *cancer du col utérin*, à la fois in vivo, au moyen d'une technique d'imagerie polarimétrique simplifiée implantée sur un colposcope, et ex-vivo, sur l'imagerie de Mueller des pièces opératoires. La motivation de cette activité est évidemment d'améliorer le dépistage du cancer du col utérin, qui est certes efficace mais encore loin d'être parfait.

Les développements instrumentaux proprement dits ont été menés au LPICM, alors que les deux autres projets ont fait évidemment l'objet de collaborations :

- Le syndrome cutané radio-induit a été étudié sur un modèle animal développé au Centre de Recherche du Service de Santé des Armées à La Tronche (Grenoble), dans le cadre d'un projet coordonné par l'Institut de Radioprotection de Sécurité Nucléaire de Fontenay-aux-Roses.
- Le projet sur le cancer du col est encore en cours, avec notamment un essai clinique démarré en avril 2007 à l'Institut Mutualiste Montsouris, en collaboration avec l'URC de la Pitié-Salpêtrière pour l'évaluation statistique des résultats et d'autres partenaires (le LSIIT de l'Université de Strasbourg le groupe Horib Jobin-Yvon) pour les développements instrumentaux à venir.

Nous tenons à souligner que tant l'étude sur le diagnostic du cancer du col de l'utérus, ainsi que sur le diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aiguë ont été effectuées in-vivo, avec toutes les difficultés qu'une application clinique signifie. Même si nous ne possédons pas en ce moment des modélisations précises de ce type des tissus, notre motivation essentielle était d'explorer directement la réponse polarimétrique de ce type des pathologies et évaluer la potentialité d'utiliser l'imagerie polarimétrique dans ce genre d'applications.

Ce manuscrit s'organise de la façon suivante :

Le *premier chapitre* est consacré à la description des formalismes de la polarisation, afin de permettre la compréhension des mécanismes de la technique utilisée, la polarimétrie.

Le *deuxième chapitre* présente les outils mathématiques pour l'exploitation des données polarimétriques. Il y est également présenté un nouveau algorithme inventé récemment par Razvigor *et al.* [3]. Son intérêt sur des tissus biologiques est démontré.

Le *troisième chapitre* décrit le polarimètre imageur de Mueller en réflexion développé dans notre laboratoire et utilisé par la suite sur les deux applications biomédicales qui suivent. L'étude de son optimisation y est également glosé.

Le *quatrième chapitre* traite le diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aiguë et présente les résultats expérimentaux obtenus sur un modèle animal ex-vivo, ainsi qu'in-vivo.

Enfin, le *dernier chapitre* est consacré au diagnostic du cancer du col de l'utérus. Le développement de l'imageur en degré de polarisation utilisé couplé sur un colposcope commercial y est abordé. Les premiers résultats de l'essai clinique qui vient de démarrer y sont également présentés.

Trois *annexes* viennent compléter ce manuscrit. La première décrit de manière plus abondante que cela a lieu dans le texte le protocole de l'essai clinique. La seconde est consacrée à une première tentative d'une recherche plus fondamentale de la réponse polarimétrique sur des diffuseurs sphériques. La troisième consiste en un glossaire biomédicale avec les termes apparaissant dans ce manuscrit.

Première partie

Principes Théoriques Fondamentaux

Chapitre 1

Les formalismes de la polarisation

Dans ce chapitre nous présentons les formalismes de la polarisation. Nous commençons par les outils mathématiques (vecteurs de Jones et de Stokes, sphère de Poincaré) utilisés pour décrire les différents états de polarisation possibles d'une onde électromagnétique. Nous introduisons ensuite les matrices de Jones et de Mueller décrivant la transformation de la polarisation par transmission, réflexion ou diffusion par un objet quelconque. Nous concluons ce chapitre par une présentation des propriétés caractéristiques des composants polarimétriques élémentaires (diatténuateurs, biréfringents et dépolariseurs) utilisés dans l'analyse des propriétés polarimétriques de l'objet étudié.

1.1 Polarisation d'une onde électromagnétique

1.1.1 Description intuitive

La notion de polarisation d'une onde électromagnétique vient de son caractère *transverse*, qui avait été mis en évidence et exploité quantitativement, notamment par Fresnel, bien avant de connaître la vraie nature électromagnétique de ces ondes et l'ensemble de leurs propriétés décrites par les équations de Maxwell.

Pour une onde se propageant suivant l'axe z le champ électrique est confiné dans le plan xy , où il décrit une courbe dont la forme détermine la polarisation de l'onde. La figure 1.1 illustre les principaux états possibles :

- Si le mouvement est totalement désordonné, on aura une onde *dépolarisée*.
- Si le champ électrique oscille dans une direction fixe (dont on montre les deux cas particuliers d'une vibration dans les plans horizontal ou vertical) on parlera de polarisation *linéaire*.
- La vibration pourra également décrire une ellipse ou un cercle (polarisations *elliptique* ou *circulaire*), et dans ce cas pour spécifier complètement l'état de polarisation il faut également définir le sens de rotation, gauche ou droit.

Les polarisations linéaires et circulaires ne sont finalement que des cas particuliers de polarisations elliptiques, qui décrivent donc l'état le plus général d'une onde *totale*ment polarisée, c'est à dire dont le mouvement est parfaitement connu. En revanche, dans le cas d'une onde *totale*ment dépolarisée, l'évolution du champ électrique n'est connu que de manière *statistique* : on ne connaît en fait que la *variance* de sa distribution de probabilité (à valeur moyenne nulle, bien entendu), qui détermine l'*intensité*. Entre ces

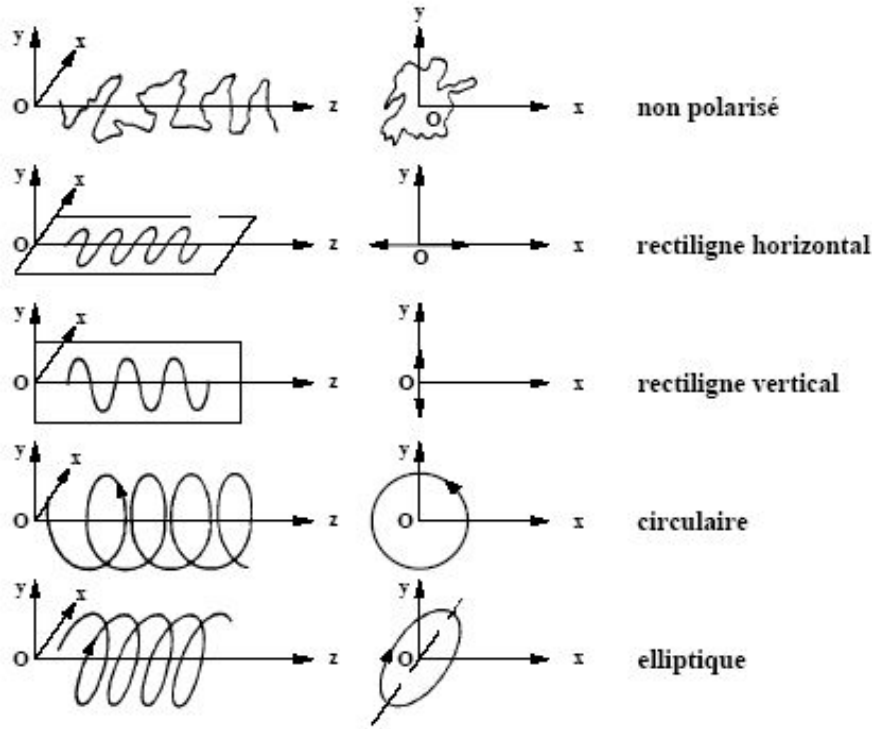


FIG. 1.1 – Différents états de polarisation [4].

deux extrêmes, on aura tous les cas possibles d'ondes *partiellement polarisées*, que l'on peut décrire comme la superposition statistique d'une contribution totalement polarisée et d'une contribution dépolarisée, le poids respectif de ces deux contributions définissant le *degré de polarisation*. Comme on le verra plus loin, cette décomposition d'une onde partiellement polarisée n'est pas unique, et dans la mesure où on ne s'intéresse in fine qu'à des intensités, une telle onde peut également être vue comme une *superposition incohérente* d'ondes totalement polarisées, de polarisations elliptiques différentes.

1.1.2 Etats totalement polarisés. Vecteur de Jones

Considérons une onde plane homogène de longueur d'onde λ et de pulsation ω , se propageant suivant z . Son champ électrique évolue dans le plan xy en fonction du temps t , suivant l'équation [5] :

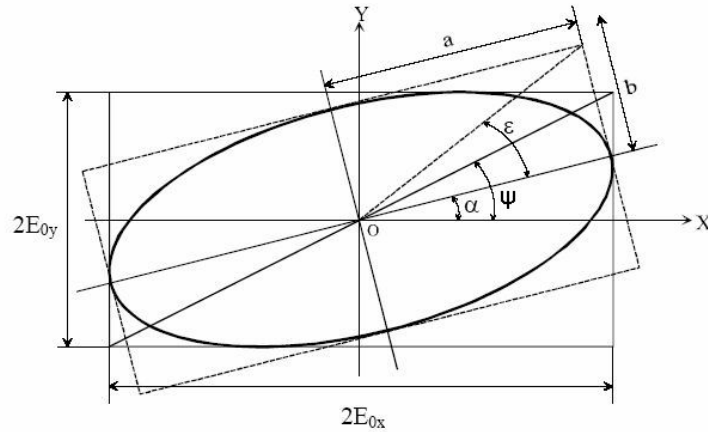
$$\vec{E}(z, t) = \begin{bmatrix} E_x(z, t) \\ E_y(z, t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E_{0x} \cos(\omega t - kz - \phi_x) \\ E_{0y} \cos(\omega t - kz - \phi_y) \end{bmatrix} \quad (1.1)$$

où E_{0x} et E_{0y} sont des amplitudes réelles positives, $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ la norme du vecteur d'onde, et ϕ_x et ϕ_y les phases définies à 2π près.

C'est la trajectoire du vecteur $\vec{E}(z, t)$ dans le plan xy qui décrit l'état de polarisation de l'onde optique considérée. L'élimination du terme temporel entre les éléments $E_x(z, t)$ et $E_y(z, t)$, de l'équation 1.1, conduit à l'équation suivante :

$$\frac{E_x^2}{E_{0x}^2} + \frac{E_y^2}{E_{0y}^2} - 2 \frac{E_x \cdot E_y}{E_{0x} \cdot E_{0y}} \cos \phi = \sin^2 \phi \quad (1.2)$$

où $\phi = \phi_x - \phi_y$ est le déphasage entre les vibrations orthogonales $E_x(z, t)$ et $E_y(z, t)$,


 FIG. 1.2 – Ellipse de polarisation d’axes a et b , d’azimut α et d’ellipticité ϵ [4].

par convention prise dans l’intervalle $[-\pi, \pi]$.

Le sens de rotation de l’ellipse dépend naturellement du signe de l’angle de phase ϕ :

- Si ϕ est compris entre 0 et π , la rotation est dite gauche, dans le sens inverse des aiguilles d’une montre et l’hélicité h est positive.
- Si ϕ est compris entre $-\pi$ et 0, la rotation est dite droite, dans le sens des aiguilles d’une montre et l’hélicité h est négative.

Suivant les valeurs relatives des amplitudes E_{0x} et E_{0y} des composants orthogonaux du champ ou encore de la valeur du déphasage ϕ , l’ellipse peut apparaître sous la forme d’un cercle ou d’un segment de droite conduisant à des états de polarisations particuliers. Ces derniers sont appelés respectivement état circulaire ou état rectiligne :

- La polarisation rectiligne (ou linéaire) correspond aux cas $\phi = 0$ ou π .
- Pour la polarisation circulaire, on a $\phi = \pm\pi/2$ et $E_{0x} = E_{0y}$ avec une rotation dans le sens des aiguilles d’une montre (polarisation circulaire *droite* pour $\phi = -\pi/2$ et *gauche* (rotation dans le sens inverse) pour $\phi = +\pi/2$).

Vecteur de Jones

La polarisation de l’onde étant entièrement définie par les amplitudes E_{0x} et E_{0y} et le déphasage ϕ entre elles, on peut regrouper ces quantités sous la forme d’un vecteur complexe \mathbf{J} , appelé *vecteur de Jones* et défini par

$$\mathbf{J} = \begin{bmatrix} J_x \\ J_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E_{0x} \\ E_{0y} \exp(-i\phi) \end{bmatrix} \quad (1.3)$$

Etats orthogonaux

Les états de polarisation elliptique définis par des vecteurs de Jones \mathbf{J}_1 et \mathbf{J}_2 de la forme

$$\mathbf{J}_1 = \begin{bmatrix} a \\ b \end{bmatrix}, \quad \mathbf{J}_2 = \begin{bmatrix} -b^* \\ a^* \end{bmatrix} \quad (1.4)$$

où a et b sont des complexes quelconques, sont dits *orthogonaux*. Les ellipses correspondantes se déduisent l’une de l’autre par échange de leurs grand et petit axe, et les

sens de rotation sont opposés (voir figure 1.3). Ces états ont la propriété remarquable *de ne pas interférer* (leurs intensités s'ajoutent). Les composants optiques ayant deux états propres de polarisation (états transmis sans déformation) orthogonaux sont dits *homogènes*. Ce sera le cas, notamment, pour les composants élémentaires appelés diatténuateurs et retardateurs décrits plus loin.

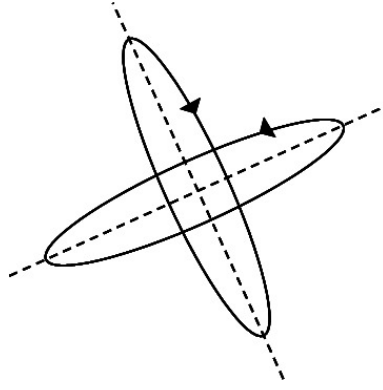


FIG. 1.3 – Etats de polarisation orthogonaux.

1.1.3 Cas général. Vecteur de Stokes

Comme on l'a vu, dans le cas général d'un état de polarisation partielle, le champ électrique, et donc son vecteur de Jones, n'est connu que statistiquement, et encore de manière très incomplète : en général on n'a pas accès à la loi de probabilité de \mathbf{J} , mais seulement à ses *seconds moments*, qui sont les seules quantités directement liées aux intensités effectivement mesurables en optique linéaire. Tout état de polarisation partielle peut donc être décrit par la matrice de variance-covariance \mathbf{C}_J de \mathbf{J} , à savoir :

$$\mathbf{C}_J = \begin{bmatrix} \langle J_x J_x^* \rangle & \langle J_y J_x^* \rangle \\ \langle J_x J_y^* \rangle & \langle J_y J_y^* \rangle \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \langle E_{0x}^2 \rangle & \langle E_{0x} E_{0y} \exp(-i\phi) \rangle \\ \langle E_{0x} E_{0y} \exp(i\phi) \rangle & \langle E_{0y}^2 \rangle \end{bmatrix} \quad (1.5)$$

A partir de ces seconds moments, on définit le *vecteur de Stokes* par [5] [6] :

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} E_{0x}^2 + E_{0y}^2 \\ E_{0x}^2 - E_{0y}^2 \\ 2E_{0x} \cdot E_{0y} \cos \phi \\ 2E_{0x} \cdot E_{0y} \sin \phi \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} I_x + I_y \\ I_x - I_y \\ I_{+45^\circ} - I_{-45^\circ} \\ I_L - I_R \end{bmatrix} \quad (1.6)$$

où les paramètres de Stokes S_i s'expriment simplement en fonction des intensités I_x , I_y , $I_{\pm 45^\circ}$ et I_{LR} mesurées respectivement derrière un polariseur linéaire orienté suivant x , y , $\pm 45^\circ$ ou une polariseur circulaire gauche ou droit. Ainsi la mesure de ces intensités permet de déterminer sans ambiguïté l'état de polarisation.

Souvent on utilise les paramètres de Stokes normalisés par rapport à S_0 .

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} 1 \\ S_1/S_0 \\ S_2/S_0 \\ S_3/S_0 \end{bmatrix} \quad (1.7)$$

Le tableau 1.1 précise les vecteurs de Stokes normalisés pour les états de polarisation fondamentaux.

| Vecteur de Stokes | H | V | +45° | -45° | L | R | Elliptique |
|--|--|---|--|---|--|---|---|
| $\begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 \\ \cos 2\epsilon \cos 2\alpha \\ \cos 2\epsilon \sin 2\alpha \\ \sin 2\epsilon \end{bmatrix}$ |

TAB. 1.1 – Vecteurs de Stokes des états de polarisation fondamentaux.

1.1.4 Réalisabilité physique d'un vecteur de Stokes

Contrairement au cas d'un "vrai" vecteur quadridimensionnel, les composantes d'un vecteur de Stokes décrivant un état de polarisation physiquement réalisable ne sont pas indépendantes. La définition même des composantes S_i implique immédiatement l'inégalité :

$$S_0^2 \geq S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 \quad (1.8)$$

qui se réduit à une égalité dans le cas d'une lumière totalement polarisée. En ce sens, l'espace des vecteurs de Stokes physiquement réalisables ne constitue pas un espace vectoriel complet, mais une partie seulement de celui-ci.

Le degré de polarisation p d'une lumière dont on connaît le vecteur de Stokes est défini par la relation [5] [6] :

$$p = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2}}{S_0} \quad (1.9)$$

Sa valeur est comprise entre 0, pour une lumière non polarisée, et 1, pour une lumière totalement polarisée.

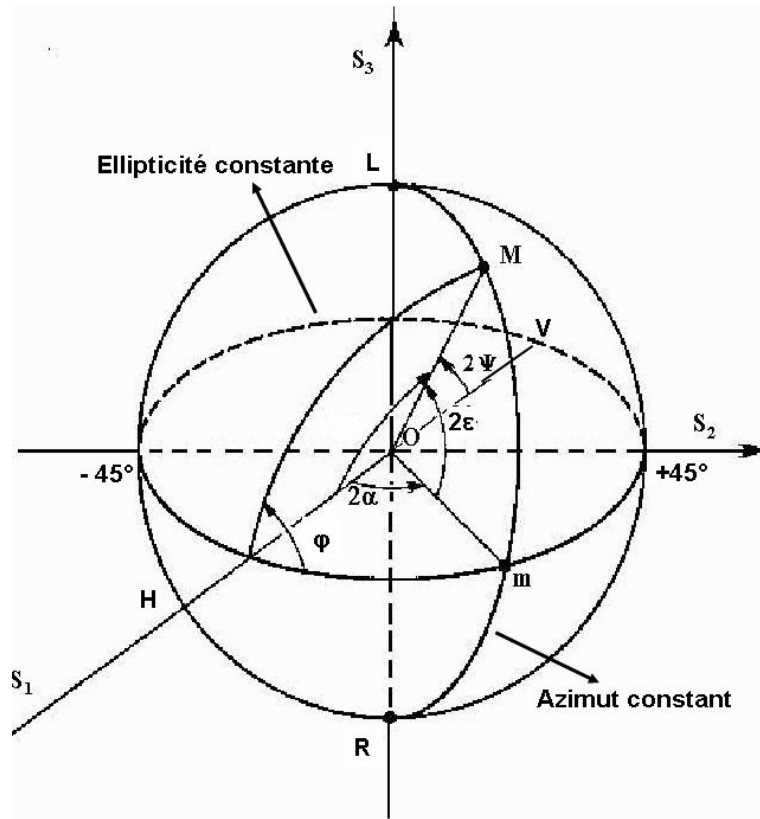
Les degrés de polarisation rectiligne et circulaire sont définis respectivement comme [7] :

$$p_L = \frac{\sqrt{S_1^2 + S_2^2}}{S_0} \quad (1.10)$$

$$p_C = \frac{S_3}{S_0} \quad (1.11)$$

1.1.5 Sphère de Poincaré

Un état totalement polarisé de polarisation quelconque est caractérisé par son ellipticité décrite par l'angle ϵ et l'inclinaison du grand axe de l'ellipse déterminée par l'angle α . De plus, le sens de rotation est donné par le signe de l'angle ϕ . Si l'on considère les angles 2α et 2ϵ comme les angles polaires en représentation sphérique dans un trièdre $OS_1S_2S_3$, l'état de polarisation caractérisé par l'inclinaison α du grand axe de l'ellipse et l'ellipticité ϵ de celle-ci, peut être représenté par un point M sur la sphère de Poincaré, de rayon unité. Le vecteur \mathbf{S} introduit précédemment est le vecteur normé \mathbf{OM} dont les coordonnées sphériques sont $\{1, 2\alpha, 2\epsilon\}$.


 FIG. 1.4 – Sphère de Poincaré¹.

L'axe S_1 représente les composantes polarisées suivant x et y . L'axe S_2 représente les composantes polarisées à 45° et 135° de la direction x . L'ensemble des lumières linéairement polarisées est disposé dans le plan équatorial S_1S_2 . L'axe S_3 représente les lumières circulairement polarisées : le pôle L est la lumière circulaire gauche et le pôle R la lumière circulaire droite. Tous les points hors du plan équatorial représentent des lumières elliptiques gauches pour l'hémisphère nord et droites pour l'hémisphère sud. Le cercle équatorial est l'ensemble des points représentatifs des états rectilignes (ellipticité nulle). Chaque parallèle de la sphère correspond à des états de polarisation d'ellipticité fixe (ϵ constant sur un parallèle) et chaque méridien représente des états dont l'azimut est fixe (α est constant sur un cercle méridien).

En utilisant les définitions des paramètres de Stokes normalisés nous obtenons [5] :

$$\begin{aligned} S_1 &= \cos 2\epsilon \cos 2\alpha = \cos 2\psi \\ S_2 &= \cos 2\epsilon \sin 2\alpha = \sin 2\psi \cos \phi \\ S_3 &= \sin 2\epsilon = \pm \sin 2\psi \sin \phi \end{aligned} \quad (1.12)$$

ou par rapport aux angles caractéristiques de l'ellipse [6] :

$$\alpha = \frac{1}{2} \arctan\left(\frac{S_2}{S_1}\right) \quad (1.13)$$

$$\epsilon = \frac{1}{2} \arcsin\left(\frac{S_3}{\sqrt{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2}}\right) \quad (1.14)$$

¹Cette figure est issue du site internet <http://perso.orange.fr/aime.vareille/pages/ellipsometrie/null.html>

Remarquons que les points représentatifs de deux états orthogonaux sont diamétralement opposés sur la sphère.

La sphère de Poincaré permet également de donner une représentation géométrique de la lumière partiellement polarisée. Un état de polarisation partielle est caractérisé par un degré de polarisation $p < 1$. Si l'intensité totale est maintenue constante (et égale à 1), la polarisation partielle se traduit par la réduction des composantes polarisées S_i , et le point représentatif se retrouve à l'intérieur de la sphère (figure 1.5 (b)) ; dans le cas extrême d'une lumière totalement dépolarisée, ce point se situe à l'origine (figure 1.5 (c)).

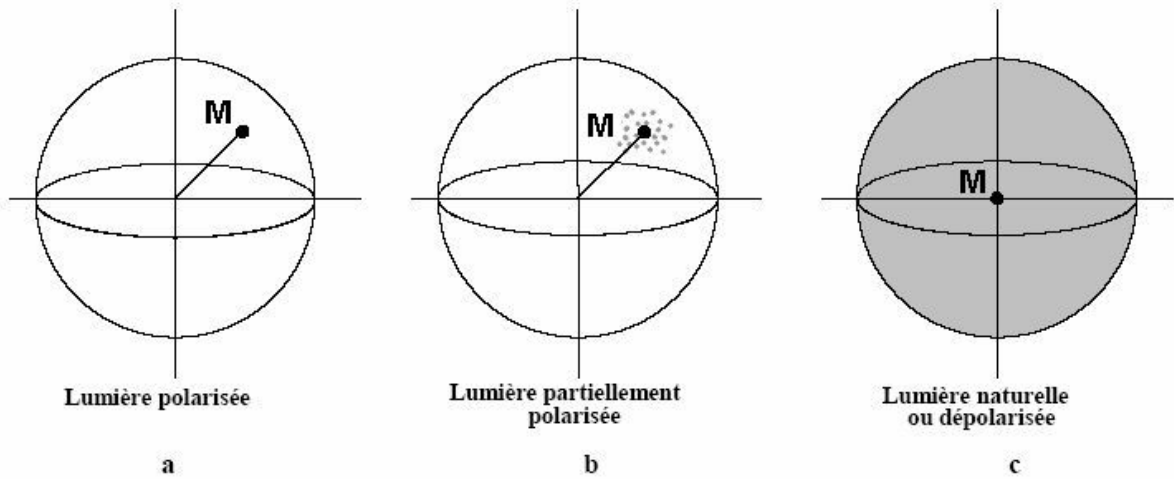


FIG. 1.5 – Représentation d'états de degré de polarisation variés sur la sphère de Poincaré [4] [5].

1.2 Transformations de l'état de polarisation par un composant optique

Lorsqu'un faisceau lumineux interagit avec un composant optique ou un objet d'étude, que ce soit en transmission, réflexion ou diffusion ou encore par combinaison de ces processus son état de polarisation peut changer. Ce changement se traduit par une transformation linéaire du vecteur de Jones ou du vecteur de Stokes décrivant cet état. Il faut toutefois prendre garde au fait que *la transformation du vecteur de Jones ne peut être utilisée que si les états initial et final sont tous deux totalement polarisés*, autrement dit que le composant ou l'objet est *non dépolarisant*. En revanche, la transformation du vecteur de Stokes est utilisable dans tous les cas.

1.2.1 Composants non dépolarisants. Matrice de Jones

En l'absence de dépolarisation, la transformation du vecteur de Jones \mathbf{J} s'effectue par la *matrice de Jones* \mathbf{T} :

$$\begin{bmatrix} J'_x \\ J'_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} T_{xx} & T_{xy} \\ T_{yx} & T_{yy} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} J_x \\ J_y \end{bmatrix} \quad (1.15)$$

cette matrice étant une matrice 2×2 complexe, sans restrictions particulières, dans la mesure où les vecteurs de Jones sont de "vrais" vecteurs. Il faut remarquer à ce sujet que si

on se restreint à des composants passifs, le module des éléments de cette matrice est limité par le fait que l'intensité de sortie est inférieure ou égale à celle à l'entrée. Ceci étant, on peut parfaitement définir la matrice de Jones d'un amplificateur de lumière (comme il en existe dans les lasers ou les fibres pour les télécommunications) et donc cette limitation n'a rien de fondamental : toute matrice complexe 2×2 peut donc être considérée comme une matrice de Jones physiquement réalisable et décrivant un composant optique non dépolarisant.

1.2.2 Cas général. Matrice de Mueller

D'une manière analogue à ce qui précède, si on décrit la polarisation des ondes incidente et émergente par deux vecteurs de Stokes S et S' , la correspondance entre ces vecteurs est décrite par une matrice réelle 4×4 \mathbf{M} , appelée *matrice de Mueller* de l'objet. Plus précisément, cette transformation s'écrit

$$\begin{bmatrix} S'_0 \\ S'_1 \\ S'_2 \\ S'_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_{11} & M_{12} & M_{13} & M_{14} \\ M_{21} & M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{31} & M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{41} & M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} S_0 \\ S_1 \\ S_2 \\ S_3 \end{bmatrix} \quad (1.16)$$

où les éléments sont numérotés suivant l'usage le plus fréquent (de 0 à 3 pour les composantes de \mathbf{S} et de 1 à 4 pour les indices de \mathbf{M}).

Compte tenu de la généralité de la description des états de polarisation par les vecteurs de Stokes, la matrice de Mueller permet de décrire les propriétés polarimétriques de n'importe quel objet, qu'il soit dépolarisant ou non. Dans toute la suite, nous privilégierons l'usage de la matrice de Mueller par rapport à celle de Jones, à la fois pour sa généralité et aussi parce qu'avec les techniques développées au laboratoire, même pour des échantillons non dépolarisants il est finalement plus facile de mesurer \mathbf{M} que \mathbf{T} .

En pratique, nous utiliserons souvent la matrice de Mueller *normalisée*, dont les éléments sont divisés par le terme M_{11} , qui représente la réflectivité (ou la transmission) de l'échantillon en lumière dépolarisée. La matrice normalisée est donc celle qui fournit l'information polarimétrique proprement dite. Comme nous le verrons dans la section suivante, toute matrice 4×4 réelle n'est pas forcément la matrice de Mueller d'un système physique. Ceci étant, on montre que pour toute matrice de Mueller physique on a la relation [8] :

$$|M_{ij}| \leq M_{11} \quad (1.17)$$

ce qui implique évidemment que les éléments de la matrice normalisée sont toujours inférieurs ou égaux à 1 en valeur absolue.

Association de plusieurs éléments

Le vecteur de Stokes émergent étant déduit du vecteur de Stokes incident par une transformation linéaire, les règles du calcul matriciel s'appliquent évidemment à la traversée de plusieurs objets les uns après les autres. Le vecteur de Stokes \mathbf{S}' émergent d'une association de k éléments caractérisés par les k matrices de Mueller M_k , se déduit du vecteur de Stokes incident \mathbf{S} par la relation [5] :

$$\mathbf{S}' = \mathbf{M} \cdot \mathbf{S}_{in} = \mathbf{M}_k \cdot \mathbf{M}_{k-1} \cdots \mathbf{M}_2 \cdot \mathbf{M}_1 \cdot \mathbf{S} \quad (1.18)$$

où $\mathbf{M} = \mathbf{M}_k \cdot \mathbf{M}_{k-1} \cdots \mathbf{M}_2 \cdot \mathbf{M}_1$ est la matrice du système des k objets en série [6]. Une relation analogue est évidemment valable pour les matrices de Jones.

Transformation par rotation

Les vecteurs et matrices de Jones étant de "vrais" vecteurs et matrices, ils se transforment dans tout changement de repère par les matrices de passage 2×2 habituelles. En revanche, les vecteurs des Stokes étant définis à partir de produits de composantes de vecteurs de Jones, leur loi de transformation est un peu différente. Plus précisément, si on considère le passage d'un système de coordonnées cartésiennes (x, y) à un autre système de coordonnées cartésiennes (x', y') obtenu à partir du premier par une rotation d'un angle χ on montre facilement à partir de la définition même que tout vecteur de Stokes \mathbf{S} dans le repère initial s'écrira dans le nouveau repère :

$$\mathbf{S}' = \mathbf{R}(\chi) \cdot \mathbf{S} \quad (1.19)$$

où la matrice de rotation $\mathbf{R}(\chi)$ est donnée par [6] :

$$\mathbf{R}(\chi) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos 2\chi & \sin 2\chi & 0 \\ 0 & -\sin 2\chi & \cos 2\chi & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (1.20)$$

Il s'ensuit que la rotation du système de coordonnées d'un angle χ autour de l'axe z de propagation de la lumière transforme la matrice de Mueller \mathbf{M} d'un système quelconque en :

$$\mathbf{M}' = \mathbf{R}(\chi) \cdot \mathbf{M} \cdot \mathbf{R}(-\chi) \quad (1.21)$$

1.2.3 Matrice de cohérence. Réalisabilité physique et caractère dépolarisant ou non d'une matrice de Mueller

Comme on l'a vu, la principale différence entre les formalismes de Jones et de Mueller est la capacité de ce dernier à décrire les effets de dépolarisation. Or, de même que les états de polarisation partielle peuvent toujours se décrire comme des superpositions statistiques d'états totalement polarisés dont on ne considère que les seconds moments, un objet dépolarisant peut être caractérisé par une *superposition statistique de matrices de Jones différentes*, cette superposition étant due en pratique à des inhomogénéités spatiales, temporelles ou spectrales de la réponse en polarisation de l'objet. Ici encore, il n'est pas nécessaire de connaître en détail la répartition statistique des matrices de Jones "élémentaires" en jeu, ses seconds moments suffisent pour une caractérisation polarimétrique complète de l'objet étudié.

Matrice de cohérence

Considérons en effet la transformation des produits $J_i J_j^*$ dont les valeurs moyennes définissent la matrice de variance-covariance C_J du vecteur de Jones. Cette transformation s'écrit :

$$\begin{bmatrix} J_x J_x^* \\ J_x J_y^* \\ J_y J_x^* \\ J_y J_y^* \end{bmatrix}' = \begin{bmatrix} T_{xx} T_{xx}^* & T_{xx} T_{xy}^* & T_{xy} T_{xx}^* & T_{xy} T_{xy}^* \\ T_{xx} T_{yx}^* & T_{xx} T_{yy}^* & T_{xy} T_{yx}^* & T_{xy} T_{yy}^* \\ T_{yx} T_{xx}^* & T_{yx} T_{xy}^* & T_{yy} T_{xx}^* & T_{yy} T_{xy}^* \\ T_{yx} T_{yx}^* & T_{yx} T_{yy}^* & T_{yy} T_{yx}^* & T_{yy} T_{yy}^* \end{bmatrix} \begin{bmatrix} J_x J_x^* \\ J_x J_y^* \\ J_y J_x^* \\ J_y J_y^* \end{bmatrix} \quad (1.22)$$

Comme en pratique il n'y a aucune corrélation (du moins en optique linéaire) entre les fluctuations statistiques des produits $J_i J_j^*$ caractérisant le champ incident et celles des $T_{lm} T_{pq}^*$ caractérisant l'objet, dans l'équation 1.22 on peut prendre séparément les moyennes dans les vecteurs colonne et dans la matrice, dont la moyenne temporelle décrit donc la transformation de la matrice \mathbf{C}_J . Cette dernière étant directement liée au vecteur de Stokes, un calcul simple permet d'explicitier la matrice \mathbf{N} de variance-covariance des éléments $T_{xx}, T_{xy}, T_{yx}, T_{yy}$ (appelée habituellement *matrice de cohérence*) définie par :

$$N_{ij,kl} = \langle T_{ij} T_{kl}^* \rangle \quad (1.23)$$

en fonction de la matrice de Mueller \mathbf{M} par la relation suivante¹ [4] :

$$\mathbf{N} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} M_{11} + M_{22} + M_{12} + M_{21} & M_{13} + M_{23} + i(M_{14} + M_{24}) & M_{31} + M_{32} - i(M_{41} + M_{42}) & M_{33} + M_{44} + i(M_{34} - M_{43}) \\ M_{13} + M_{23} - i(M_{14} + M_{24}) & M_{11} - M_{22} - M_{12} + M_{21} & M_{33} - M_{44} - i(M_{34} + M_{43}) & M_{31} - M_{32} - i(M_{41} - M_{42}) \\ M_{31} + M_{32} + i(M_{41} + M_{42}) & M_{33} - M_{44} + i(M_{34} + M_{43}) & M_{11} - M_{22} + M_{12} - M_{21} & M_{13} - M_{23} + i(M_{14} - M_{24}) \\ M_{33} + M_{44} - i(M_{34} - M_{43}) & M_{31} - M_{32} + i(M_{41} - M_{42}) & M_{13} - M_{23} - i(M_{14} - M_{24}) & M_{11} + M_{22} - M_{12} - M_{21} \end{bmatrix} \quad (1.24)$$

La matrice \mathbf{N} une matrice 4×4 hermitique par définition, ses valeurs propres sont réelles et la diagonalisation s'effectue par une transformation unitaire. De plus, puisqu'il s'agit d'une matrice de variance-covariance, *ses valeurs propres sont positives ou nulles*.

Réalisabilité physique d'une matrice de Mueller

De même que tout vecteur à quatre composantes réelles n'est pas nécessairement un vecteur de Stokes réalisable (il doit pour cela vérifier la relation 1.8), toute matrice réelle 4×4 ne correspond pas forcément à une matrice de Mueller. Une condition évidemment nécessaire est la suivante : tout vecteur de Stokes physique doit être transformé en un autre vecteur de Stokes physique. Cette condition n'est toutefois pas suffisante, et, de plus elle n'est pas très pratique pour vérifier effectivement la réalisabilité d'une matrice donnée (par exemple obtenue par une mesure potentiellement trop imprécise).

Cette réalisabilité est en fait déterminée de la manière suivante : à partir de la matrice \mathbf{M} étudiée, on forme la matrice de cohérence \mathbf{N} correspondante en utilisant les relations 1.24. La question est ramenée à la suivante : la matrice \mathbf{N} ainsi déterminée est-elle une matrice de cohérence acceptable ? Il faut et il suffit pour cela qu'elle puisse être considérée comme une matrice de variance-covariance de quatre variables aléatoires complexes (les éléments T_{ij} de la matrice de Jones définie statistiquement), ce qui équivaut à dire que *ses valeurs propres sont positives ou nulles*, ce qui se vérifie très facilement dans chaque cas particulier.

Caractère dépolarisant ou non d'une matrice de Mueller

La matrice de cohérence permet également de répondre facilement à la question de savoir si une matrice de Mueller décrit un système dépolarisant ou non. En effet, dans ce dernier cas, la matrice de Jones \mathbf{T} est donnée *exactement*, et non statistiquement. La matrice \mathbf{N} est

¹Moyennant un réarrangement des indices "bidimensionnels" $ij = xx, xy, yx, yy$ de l'équation 1.23 en indices "unidimensionnels" 1,2,3,4.

alors rigoureusement égale aux produits $T_{ij}T_{kl}^*$: elle n'est autre que la matrice de projection orthogonal, dans l'espace \mathbb{C}^4 , sur le vecteur formé par les quatre composantes T_{ij} de la matrice de Jones. Autrement dit, une condition nécessaire et suffisante pour qu'une matrice de Mueller soit non dépolarisante est que la *matrice de cohérence associée* (calculée par l'équation 1.24) ait une valeur propre strictement positive, et les trois autres nulles. De plus, la diagonalisation effective de la matrice \mathbf{N} fournit la matrice de Jones associée : ses quatre éléments ne sont autres que les quatre composantes du vecteur propre de \mathbf{N} associé à la valeur propre non nulle.

1.2.4 Définition des principales propriétés polarimétriques

Toute matrice de Mueller peut être caractérisée par quatre propriétés principales, le dichroïsme (ou diatténuation), la polarisance, la biréfringence et le pouvoir de dépolarisation.

Dichroïsme ou Diatténuation

Le dichroïsme D d'un élément optique est son *anisotropie de transmission*, autrement dit la dépendance de sa transmission en fonction de la polarisation incidente. C'est la seule propriété (avec la polarisance) directement lisible sur les éléments de la matrice de Mueller \mathbf{M} la plus générale.

Le dichroïsme scalaire est défini comme [9] :

$$D = \frac{T_{max} - T_{min}}{T_{max} + T_{min}} \quad (1.25)$$

Les transmissions maximale et minimale sont données par la relation :

$$T_{\begin{matrix} max \\ min \end{matrix}} = M_{11} \pm \sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \quad (1.26)$$

et sont obtenues pour les vecteurs de Stokes incidents suivants :

$$\mathbf{S}_{max} = \begin{bmatrix} 1 \\ M_{12}/\sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \\ M_{13}/\sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \\ M_{14}/\sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \end{bmatrix}, \quad \mathbf{S}_{min} = \begin{bmatrix} 1 \\ -M_{12}/\sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \\ -M_{13}/\sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \\ -M_{14}/\sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \end{bmatrix} \quad (1.27)$$

Le dichroïsme scalaire D peut donc être exprimé en fonction des éléments de la première ligne de la matrice de Mueller

$$D = \frac{1}{M_{11}} \sqrt{M_{12}^2 + M_{13}^2 + M_{14}^2} \quad (1.28)$$

Le dichroïsme scalaire varie entre 0 pour un élément qui joue le rôle d'un convertisseur d'un état de polarisation en un autre état de polarisation sans affecter les intensités, comme un retardateur idéal et 1 pour un polariseur idéal qui absorbe complètement une composante et laisse passer l'autre sans aucune modification.

Outre la valeur scalaire D , on définit le *vecteur* tridimensionnel dichroïsme \vec{D} ¹ par :

$$\vec{D} = \begin{bmatrix} D_H \\ D_{45} \\ D_C \end{bmatrix} = \frac{1}{M_{11}} \begin{bmatrix} M_{12} \\ M_{13} \\ M_{14} \end{bmatrix} \quad (1.29)$$

¹Nous utilisons la notation \vec{V} pour les vecteurs tridimensionnels sur la sphère de Poincaré, et \mathbf{V} pour les vecteurs de dimension 4 comme les vecteurs de Stokes.

Les expressions S_{max} et S_{min} peuvent aussi être écrites comme :

$$\mathbf{S}_{max} = \begin{bmatrix} 1 \\ \vec{D}/D \end{bmatrix}, \quad \mathbf{S}_{min} = \begin{bmatrix} 1 \\ -\vec{D}/D \end{bmatrix} \quad (1.30)$$

Si nous utilisons le symbole T_H pour décrire la transmission pour de la lumière horizontalement polarisée et des définitions similaires pour T_V , T_{45} , T_{135} , T_R et T_L , nous aurons les dichroïsmes "spécialisés" :

$$D_H = \frac{M_{12}}{M_{11}} = \frac{T_H - T_V}{T_H + T_V} \quad (1.31)$$

$$D_{45} = \frac{M_{13}}{M_{11}} = \frac{T_{45} - T_{135}}{T_{45} + T_{135}} \quad (1.32)$$

$$D_C = \frac{M_{14}}{M_{11}} = \frac{T_R - T_L}{T_R + T_L} \quad (1.33)$$

Polarisance

La polarisance P est définie comme le *degré de polarisation introduit par un élément optique sur un faisceau incident non polarisé*. Elle est déterminée à partir de la première colonne de la matrice de Mueller [9] :

$$P = \frac{1}{M_{11}} \sqrt{M_{21}^2 + M_{31}^2 + M_{41}^2}, \quad 0 \leq P \leq 1 \quad (1.34)$$

De même que pour le dichroïsme, on définit un vecteur polarisance \vec{P} :

$$\vec{P} = \begin{bmatrix} P_H \\ P_{45} \\ P_R \end{bmatrix} = \frac{1}{M_{11}} \begin{bmatrix} M_{21} \\ M_{31} \\ M_{41} \end{bmatrix}, \quad \|\hat{P}\| = P \quad (1.35)$$

qui précise non seulement le degré de polarisation créée, mais également la direction du vecteur de Stokes associé.

Biréfringence ou retard

La biréfringence est liée à la *variation de l'indice optique en fonction de la polarisation incidente*, et donc au *déphasage* que l'élément peut introduire entre différents états de polarisation. Ceci étant, contrairement au dichroïsme, la biréfringence n'apparaît pas directement sur les éléments d'une matrice de Mueller quelconque. En fait, on ne peut réellement définir de retard R qu'entre les états propres du composant (les états de polarisation transmis sans déformation) :

$$R = |\delta_q - \delta_r|, \quad 0 \leq R \leq \pi \quad (1.36)$$

où δ_q et δ_r sont les déphasages introduits par le composant sur chacun des deux états propres.

L'axe rapide est défini par l'état de polarisation propre pour lequel le déphasage est le plus faible (il émerge donc le premier du déphaseur). Soit $(1, \alpha_1, \alpha_2, \alpha_3)^T = (1, \hat{R}^T)^T$ le vecteur de Stokes correspondant. Comme pour un élément dichroïque, cet état est en général elliptique et totalement polarisé d'où $\sqrt{\alpha_1^2 + \alpha_2^2 + \alpha_3^2} = \|\hat{R}\| = 1$. Le grand axe de l'ellipse définit l'axe (rapide) du déphaseur.

Le retard et l'axe rapide associé sont décrits par un vecteur retard tridimensionnel \vec{R} sur la sphère de Poincaré, défini par la relation suivante :

$$\vec{R} = R \cdot \hat{R} = \begin{bmatrix} R \cdot \alpha_1 \\ R \cdot \alpha_2 \\ R \cdot \alpha_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} R_H \\ R_{45} \\ R_C \end{bmatrix} \quad (1.37)$$

R_H , R_{45} et R_C sont les composantes horizontale, linéaire à 45° et circulaire du vecteur retard. Le retard linéaire R_L est alors défini par la relation ci-dessous :

$$R_L = \sqrt{R_H^2 + R_{45}^2} \quad (1.38)$$

Le retard total R s'écrit aussi :

$$R = \sqrt{R_H^2 + R_{45}^2 + R_C^2} \quad (1.39)$$

Pouvoir de dépolarisation

Il s'agit de la capacité du composant de *réduire le degré de polarisation d'une onde incidente*. Comme cela a déjà été discuté plus haut, cette propriété est liée au fait que le composant est décrit par une matrice Jones définie statistiquement et non de manière précise. Si la réduction du degré de polarisation dépend de l'état incident, on parlera de dépolarisation *anisotrope* : à la traversée du composant le point représentatif de l'état incident sur la sphère de Poincaré se rapproche du centre, et ce de manière différente suivant sa position initiale. Il faut remarquer qu'un composant physiquement isotrope (par exemple une suspension de diffuseurs sphériques) peut avoir un pouvoir de dépolarisation anisotrope sur la sphère de Poincaré : la dépolarisation sera en général différente pour une polarisation incidente circulaire ou linéaire, même si dans ce dernier cas la dépolarisation est évidemment indépendante de la direction de polarisation dans l'espace réel.

Ceci étant, pour toute matrice de Mueller \mathbf{M} la valeur moyenne de la dépolarisation (la moyenne étant prise sur la sphère de Poincaré) s'exprime directement par [10] :

$$\Delta_M = 1 - \sqrt{\frac{\sum_{i,j=1}^4 M_{i,j}^2 - M_{11}^2}{3M_{11}^2}} \quad (1.40)$$

et on peut vérifier facilement que cette *dépolarisation moyenne* varie entre 0, pour une matrice non dépolarisante, et 1 pour un dépolariseur parfait (pour lequel seul $M_{11} = 1$ est non nul).

1.3 Composants optiques élémentaires de polarisation

1.3.1 Dichroïque ou Diattenuateur

Un dichroïque "pur" est défini comme un élément *homogène* n'introduisant qu'une différence de transmission entre ses états propres, qui ne sont autres que les \mathbf{S}_{min} et \mathbf{S}_{max} définis par 1.27. Cet élément a une matrice de Mueller symétrique \mathbf{M}_D , donnée par la relation suivante [9] :

$$\mathbf{M}_D = T_u \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & \mathbf{m}_D \end{bmatrix} \quad (1.41)$$

avec

$$\mathbf{m}_D = \sqrt{1 - D^2} \mathbf{I} + (1 - \sqrt{1 - D^2}) \hat{D} \hat{D}^T \quad (1.42)$$

où \mathbf{I} est la matrice d'identité 3×3 , $\hat{D} = \vec{D} / \|\vec{D}\|$ représente le vecteur unité au long du vecteur dichroïsme \vec{D} et T_u est la transmission pour de la lumière non polarisée.

La matrice de Mueller d'un dichroïque pur a également les propriétés suivantes :

$$\mathbf{M}_D \begin{bmatrix} 1 \\ \pm \hat{D} \end{bmatrix} = T_u (1 \pm D) \begin{bmatrix} 1 \\ \pm \hat{D} \end{bmatrix} \quad (1.43)$$

et

$$\mathbf{m}_D \vec{D} = \vec{D}, \quad \mathbf{m}_D \vec{D}_\perp = \sqrt{1 - D^2} \vec{D}_\perp \quad (1.44)$$

où \vec{D}_\perp est un vecteur orthogonal à \vec{D} .

Polariseur

Le polariseur est un cas spécial de diatténuateur. C'est un dispositif optique qui transmet (ou réfléchit) un état de polarisation et qui a une transmission (ou une réflexion) nulle pour l'état de polarisation orthogonal [5]. Il s'agit évidemment de la définition d'un polariseur idéal. Dans la réalité ce composant laisse toujours passer une fraction de l'état orthogonal. Il faudra donc définir un taux d'extinction pour caractériser ce composant.

Il existe des polariseurs rectilignes, circulaires et elliptiques. En pratique, les caractéristiques principales d'un polariseur rectiligne sont le taux d'extinction, l'ouverture angulaire, la transparence pour l'état transmis et la réponse spectrale.

Taux d'extinction - Transmission

Considérons un polariseur rectiligne, dont la direction de passage est la direction Ox . Lorsque ce polariseur tourne devant une lumière polarisée rectiligne et d'intensité unité, la transmission T de celui-ci varie entre deux valeurs T_{max} et T_{min} suivant la relation :

$$T = [T_{max} - T_{min}] \cos^2 \theta + T_{min} \quad (1.45)$$

où θ est l'angle entre l'axe Ox et l'azimut de la lumière polarisée. Dans le cas du polariseur parfait, T_{min} est nul et T_{max} est égal à 1. En règle générale, les transmissions principales ($\theta = 0$ et $\theta = \pi/2$) T_{max} et T_{min} satisfont la relation :

$$T_{min} \ll T_{max} \quad (1.46)$$

Le taux d'extinction c est défini par l'expression suivante :

$$c = \frac{T_{max}}{T_{min}} \quad (1.47)$$

Matrice de Mueller d'un polariseur

De manière générale, la matrice de Mueller d'un polariseur rectiligne d'azimut θ et de transmission τ est donnée par la relation [5] [6] :

$$M = \frac{\tau}{2} \begin{bmatrix} 1 & \cos 2\theta & \sin 2\theta & 0 \\ \cos 2\theta & \cos^2 2\theta & \cos 2\theta \sin 2\theta & 0 \\ \sin 2\theta & \cos 2\theta \sin 2\theta & \sin^2 2\theta & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (1.48)$$

Quelques cas particuliers sont présentés dans le tableau 1.2.

| Linéaire Horizontal | Linéaire Vertical | Linéaire à 45° | Circulaire |
|--|--|--|--|
| $\frac{\pi}{2} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$ | $\frac{\pi}{2} \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$ | $\frac{\pi}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}$ | $\frac{\pi}{2} \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & \pm 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \pm 1 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$ |

TAB. 1.2 – Matrices de Mueller des polariseurs élémenteurs [5] [6].

1.3.2 Déphaseur ou Retardateur

Un retardateur (ou déphaseur) "pur" est défini comme un composant homogène non dépolarisant n'introduisant que du déphasage entre ses états propres. L'effet de ce type de composant sur un état de polarisation quelconque est équivalent à une rotation sur la sphère de Poincaré, autour de l'axe défini par les deux états propres orthogonaux.

La matrice de Mueller d'un déphaseur pur est de la forme [9] :

$$\mathbf{M}_R = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & \mathbf{m}_R \end{bmatrix} \quad (1.49)$$

avec

$$(\mathbf{m}_R)_{i,j} = \delta_{i,j} \cos R + \alpha_i \alpha_j (1 - \cos R) + \sum_{k=1}^3 \epsilon_{ijk} \alpha_k \sin R, \quad i, j = 1, 2, 3 \quad (1.50)$$

où R est le retard, $(1, \alpha_1, \alpha_2, \alpha_3)^T = (1, \hat{R}^T)$ le vecteur de Stokes normalisé pour l'axe rapide, δ_{ij} le symbole de Kronecker, ϵ_{ijk} le symbole de permutation de Levi-Civita et \mathbf{m}_R la matrice 3×3 obtenue en supprimant la première ligne et la première colonne de \mathbf{M}_R . La transmission du déphaseur a été fixée à l'unité.

Les états propres de polarisation se trouvent le long des axes rapide et lent soit :

$$\mathbf{M}_R \begin{bmatrix} 1 \\ \pm \hat{R} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ \pm \hat{R} \end{bmatrix}, \quad \mathbf{m}_R \hat{R} = \hat{R} \quad (1.51)$$

Inversement, le retard et l'axe rapide d'une matrice de Mueller d'un déphaseur sont donnés par :

$$R = \cos^{-1} \left[\frac{\text{tr}(\mathbf{M}_R)}{2} - 1 \right] \quad (1.52)$$

et

$$\alpha_i = \frac{1}{2 \sin R} \sum_{j,k=1}^3 \epsilon_{ijk} (\mathbf{m}_R)_{jk} \quad (1.53)$$

Un type particulier de retardateur sont les lames retard, dont les états propres sont linéaires. Pour des valeurs particulières du retard, ces lames sont couramment désignées de la manière suivante [5] :

1. **Lame onde pour** $\phi = 2k\pi$, k **entier**. Pour un déphasage introduit par la lame tel que $\phi = 2k\pi$, l'état de polarisation émergent est identique à l'état de polarisation incident. On appelle ces lames anisotropes des lames onde pour rappeler qu'un déphasage de 2π est équivalent à un chemin optique égal à une longueur d'onde. Notons toutefois qu'une lame onde ne l'est que pour une longueur d'onde λ donnée ou de ses sous-multiples.
2. **Lame demi-onde pour** $\phi = \pi + 2k\pi$, k **entier**. Elle introduit un déphasage ϕ égal à π , qui est équivalent à un chemin optique égal à une demi-longueur d'onde $\lambda/2$.

3. **Lame quart d'onde pour $\phi = \pi/2 + k\pi$, k entier.** Le déphasage qu'elle introduit est égal à $\pi/2$ et est équivalent à un chemin optique égal à un quart de longueur d'onde soit $\lambda/4$.

Les matrices de Mueller des certains déphaseurs caractéristiques sont résumés dans le tableau 1.3 :

| Lame demi-onde | Lame quart d'onde |
|--|---|
| $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1 \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & -1 & 0 \end{bmatrix}$ |
| Déphaseur linéaire dans ses axes | Déphaseur linéaire orienté à 45° |
| $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \cos \Delta & \sin \Delta \\ 0 & 0 & -\sin \Delta & \cos \Delta \end{bmatrix}$ | $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos \Delta & 0 & \sin \Delta \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & -\sin \Delta & 0 & \cos \Delta \end{bmatrix}$ |
| Déphaseur linéaire d'azimut ϕ | Déphaseur circulaire |
| $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & C^2 + S^2 \cos \Delta & CS(1 - \cos \Delta) & S \sin \Delta \\ 0 & CS(1 - \cos \Delta) & C^2 + S^2 \cos \Delta & -C \sin \Delta \\ 0 & -S \sin \Delta & C \sin \Delta & \cos \Delta \end{bmatrix}$ $C = \cos(2\phi) \quad S = \sin(2\phi)$ | $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos(\Delta/2) & \sin(\Delta/2) & 0 \\ 0 & -\sin(\Delta/2) & \cos(\Delta/2) & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$ |
| Déphaseur elliptique d'azimut ϕ et d'ellipticité $\tan \epsilon$ | |
| $\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & D^2 - E^2 - F^2 + G^2 & 2(DE + FG) & -2(DF + EG) \\ 0 & 2(DE - FG) & -D^2 + E^2 - F^2 + G^2 & -2(DG - EF) \\ 0 & -2(DF - EG) & -2(DG + EF) & -D^2 - E^2 + F^2 + G^2 \end{bmatrix}$ $D = \cos 2\epsilon \cos 2\phi \sin \Delta/2 \quad F = \sin 2\epsilon \cos 2\phi \sin \Delta/2$ $E = \cos 2\epsilon \sin 2\phi \sin \Delta/2 \quad G = \cos \Delta/2$ | |

TAB. 1.3 – Matrices de Mueller des déphaseurs [11]

Rotateur

Le rotateur est un autre cas particulier du déphaseur. Il s'agit d'une lame qui n'introduit que de la biréfringence circulaire pure [5]. La matrice de Mueller d'un rotateur d'angle α est

donnée par la relation [5] [6] :

$$M = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos 2\alpha & -\sin 2\alpha & 0 \\ 0 & \sin 2\alpha & \cos 2\alpha & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (1.54)$$

1.3.3 Dépolariseur

Un élément sans dichroïsme ni retard constitue un dépolariseur pur, dont la matrice de Mueller a la forme générale suivante [9] :

$$\mathbf{M}_\Delta = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & \mathbf{m}_\Delta \end{bmatrix}, \quad \mathbf{m}_\Delta^T = \mathbf{m}_\Delta \quad (1.55)$$

où \mathbf{m}_Δ est une matrice 3×3 symétrique. Une telle matrice est toujours diagonalisable par une transformation unitaire. Ses vecteurs propres constituent donc un trièdre orthonormé sur la sphère de Poincaré, et dans cette nouvelle base la matrice de Mueller prend la forme suivante :

$$\begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & a & 0 & 0 \\ 0 & 0 & b & 0 \\ 0 & 0 & 0 & c \end{bmatrix}, \quad |a|, |b|, |c| \leq 1 \quad (1.56)$$

où les valeurs propres a, b, c de \mathbf{m}_Δ donnent les trois principaux facteurs de dépolarisation. Les vecteurs propres de \mathbf{m}_Δ définissent donc les états pour lesquels le degré de polarisation diminue, sans changement des rapports entre les composantes polarisées : le point représentatif se rapproche du centre de la sphère de Poincaré d'un facteur a, b , ou c en restant sur le même rayon vecteur.

Pour ce type de composant on peut définir également la dépolarisation diagonale Δ_D comme [9] :

$$\Delta_D = 1 - \frac{|\alpha| + |b| + |c|}{3} \quad (1.57)$$

et cela correspond à la moyenne de ses facteurs principaux de dépolarisation.

1.3.4 Retardateur linéaire dichroïque

La matrice de Mueller d'un composant non dépolarisant présentant à la fois du dichroïsme linéaire et du retard linéaire avec les mêmes axes propres est de la forme [6] :

$$\mathbf{M}(\tau, \Psi, \Delta) = \tau \begin{bmatrix} 1 & -\cos 2\Psi & 0 & 0 \\ -\cos 2\Psi & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \sin 2\Psi \cos \Delta & \sin 2\Psi \sin \Delta \\ 0 & 0 & -\sin 2\Psi \sin \Delta & \sin 2\Psi \cos \Delta \end{bmatrix} \quad (1.58)$$

où on a introduit les paramètres Ψ et Δ consacrés par l'usage en ellipsométrie classique : en effet la réflexion sur une surface isotrope est décrite par une matrice de ce type. Nous verrons par la suite que ce type de matrice joue un rôle essentiel dans la procédure d'étalonnage de l'imageur de Mueller que nous avons utilisé.

1.4 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons rappelé les notions de base et les principaux outils mathématiques de la polarisation. Après une description intuitive, nous avons introduit le formalisme de Jones, mais avons développé essentiellement la description des états de polarisation par le vecteur de Stokes et sa transformation par la matrice de Mueller. Ce formalisme est en effet le seul en mesure de décrire correctement les effets de dépolarisation, qui jouent un rôle essentiel pour de nombreuses applications en biologie. Nous avons ensuite défini les propriétés polarimétriques (diatténuation, retard et dépolarisation) d'un échantillon quelconque, et avons précisé la forme des matrices de Mueller des composants élémentaires ne présentant chacun qu'une de ces propriétés (diatténuateur, retardateur et dépolariseur "purs").

Dans la mesure où un échantillon quelconque peut présenter simultanément les trois propriétés polarimétriques, une manière de découpler ces propriétés les unes des autres pour obtenir une information pertinente pour un problème donné consiste à exprimer la matrice de Mueller de l'échantillon en un produit de matrices d'éléments simples. Le chapitre suivant présente deux algorithmes permettant de réaliser ce type de décomposition, ainsi qu'une discussion de leur intérêt potentiel pour des applications biomédicales.

Chapitre 2

Analyse de la matrice de Mueller

Comme on l'a vu dans le chapitre précédent, pour une matrice de Mueller quelconque les caractéristiques polarimétriques essentielles n'apparaissent pas directement sur ses éléments (sauf le dichroïsme et la polarisation), et ne peuvent être extraites que par divers traitements dont le plus connu est la décomposition "polaire" proposée par Lu et Chipman [9] en 1996.

Cette décomposition permet d'écrire toute matrice de Mueller non singulière comme un produit de trois matrices d'éléments simples : un dichroïque, un biréfringent et un dépolariseur traversés dans cet ordre. Pour toute matrice non singulière physiquement réalisable, cette procédure fournit un triplet unique de matrices elles-mêmes physiquement réalisables. Cette propriété essentielle de l'algorithme de Lu et Chipman explique qu'il ait été beaucoup utilisé pour l'interprétation des matrices de Mueller obtenues expérimentalement et en particulier en imagerie polarimétrique.

Cependant, il ne faut pas perdre de vue que l'unicité et la physicité de la décomposition est liée à deux choix essentiels :

1. La décomposition en un *produit* de matrices élémentaires suppose qu'on traverse les éléments simples en série.
2. L'*ordre* de ces éléments est également fixé a priori.

Dans la mesure où ces choix peuvent ne pas correspondre à la réalité, la question de la pertinence des résultats fournis par cette décomposition reste posée.

Des décompositions en *sommes* de matrices particulières ont été également décrites [12][13] et ne seront pas discutées ici. En revanche, l'influence de l'ordre des éléments d'une décomposition produit sera étudié en détail.

Parmi les six choix possibles pour une décomposition en trois éléments simples, seuls les trois pour lesquels on suppose que le diatténuateur précède le dépolariseur peuvent être traités par l'algorithme de Lu et Chipman ou ses variantes. En revanche, pour les trois autres cas, d'autres méthodes s'avèrent nécessaires. Un algorithme a été proposé récemment dans ce but [14], mais les matrices obtenues peuvent être non physiques si le système étudié n'est pas effectivement de la forme supposée a priori (un dépolariseur précédant un diatténuateur, avec éventuellement un biréfringent dont la position n'a pas d'importance).

Le problème a été résolu récemment par un autre algorithme de décomposition "inverse" proposée par Ossikovski *et al.* [3]. Cet algorithme non seulement "reconstruit" correctement les matrices élémentaires de systèmes comportant un dépolariseur avant un diatténuateur, mais il fournit un triplet de matrices physiques pour toute matrice de Mueller non singulière, ce qui en fait une alternative intéressante de la décomposition classique.

Dans ce chapitre, après avoir résumé la théorie de ces deux décompositions, nous présentons une vérification expérimentale de la validité de la décomposition "inverse" et nous discutons son intérêt potentiel pour l'imagerie polarimétrique de tissus biologiques.

2.1 Décomposition polaire classique

Dans la procédure définie dans la référence [9] on commence par écrire la matrice de Mueller \mathbf{M} à décomposer sous la forme suivante :

$$\mathbf{M} = M_{11} \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{P} & \mathbf{m} = \begin{bmatrix} M_{22} & M_{23} & M_{24} \\ M_{32} & M_{33} & M_{34} \\ M_{42} & M_{43} & M_{44} \end{bmatrix} \end{bmatrix} \quad (2.1)$$

où \vec{D} et \vec{P} sont respectivement les vecteurs dichroïsme et polarisation de \mathbf{M} . L'objectif est de déterminer les matrices \mathbf{M}_D , \mathbf{M}_R et \mathbf{M}_Δ , respectivement du dichroïque, du retardateur et du dépolariseur telles que :

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_\Delta \mathbf{M}_R \mathbf{M}_D \quad (2.2)$$

2.1.1 Calcul des matrices élémentaires

L'algorithme détermine d'abord \mathbf{M}_D , puis \mathbf{M}_Δ et enfin \mathbf{M}_R .

Matrice du diatténuateur

Le calcul de \mathbf{M}_D s'effectue uniquement à partir du vecteur dichroïsme \vec{D} .

$$\mathbf{M}_D = M_{11} \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}^T \\ \vec{D} & \mathbf{m}_D \end{bmatrix} \quad (2.3)$$

avec la matrice \mathbf{m}_D donnée par l'équation 1.44, qui peut s'écrire :

$$\mathbf{m}_D = \begin{bmatrix} \kappa + \delta M_{12}^2 & \delta M_{12} M_{13} & \delta M_{12} M_{14} \\ \delta M_{12} M_{13} & \kappa + \delta M_{13}^2 & \delta M_{13} M_{14} \\ \delta M_{12} M_{14} & \delta M_{13} M_{14} & \kappa + \delta M_{14}^2 \end{bmatrix} \quad (2.4)$$

en posant $\kappa = \sqrt{1 - D^2}$ et $\delta = (1 - \sqrt{1 - D^2}) / (D^2 M_{11}^2)$.

Matrice du dépolariseur

Une fois la matrice du dichroïque \mathbf{M}_D connue, on calcule la matrice \mathbf{M}' définie par :

$$\mathbf{M}' = \mathbf{M} \mathbf{M}_D^{-1} \quad (2.5)$$

Puisqu'on a déjà isolé la diatténuation du système dans la matrice du dichroïque \mathbf{M}_D (équation 2.3), la matrice \mathbf{M}' présente un dichroïsme nul mais une polarisation non nulle :

$$\mathbf{M}' = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_\Delta & \mathbf{m}' \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_\Delta & \mathbf{m}_\Delta \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{0} & \mathbf{m}_R \end{bmatrix} = \mathbf{M}_\Delta \mathbf{M}_R \quad (2.6)$$

compte tenu de l'équation 2.2. La relation ci-dessus précise la forme que doit prendre la matrice du dépolariseur à savoir :

$$\mathbf{M}_\Delta = \begin{bmatrix} 1 & \vec{0}^T \\ \vec{P}_\Delta & \mathbf{m}_\Delta \end{bmatrix}, \quad \mathbf{m}_\Delta^T = \mathbf{m}_\Delta \quad (2.7)$$

Cette expression est un peu différente de celle d'un "vrai" dépolariseur (équation 1.55), puisqu'il faut y inclure un terme de polarisance pour pouvoir résoudre le problème¹. Ce vecteur polarisance s'obtient par l'équation 2.5 après inversion de \mathbf{M}_D (inversion qui n'est possible que si $D \neq 1$) :

$$\vec{P}_\Delta = \frac{\vec{P} - \mathbf{m}\vec{D}}{1 - D^2} \quad (2.8)$$

Reste à déterminer \mathbf{M}_Δ . L'équation 2.6 implique évidemment

$$\mathbf{m}' = \mathbf{m}_\Delta \mathbf{m}_R \quad (2.9)$$

d'où

$$\mathbf{m}' (\mathbf{m}')^T = \mathbf{m}_\Delta \mathbf{m}_R (\mathbf{m}_R)^T (\mathbf{m}_\Delta)^T = \mathbf{m}_\Delta \mathbf{m}_\Delta \quad (2.10)$$

compte tenu de l'unitarité de la matrice de rotation \mathbf{m}_R et de la symétrie de \mathbf{m}_Δ . Cette dernière matrice est donc la "racine carrée", au sens des matrices symétriques, de $\mathbf{m}' (\mathbf{m}')^T$. Cette racine carrée matricielle peut être déterminée par diagonalisation explicite de $\mathbf{m}' (\mathbf{m}')^T$, et remplacement des valeurs propres λ_1, λ_2 et λ_3 par leurs racines carrées, ou peut s'exprimer directement par la formule suivante :

$$\mathbf{m}_\Delta = \pm \left[\mathbf{m}' (\mathbf{m}')^T + \left(\sqrt{\lambda_1 \lambda_2} + \sqrt{\lambda_2 \lambda_3} + \sqrt{\lambda_3 \lambda_1} \mathbf{I} \right) \right]^{-1} \times \left[\left(\sqrt{\lambda_1} + \sqrt{\lambda_2} + \sqrt{\lambda_3} \right) \mathbf{m}' (\mathbf{m}')^T + \sqrt{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3} \mathbf{I} \right] \quad (2.11)$$

Le signe \pm est déterminé par la valeur du déterminant de la matrice \mathbf{m}' . On applique un signe négatif à l'expression si ce déterminant est négatif.

Matrice du retardateur

La décomposition polaire de la matrice de Mueller s'achève par le calcul de \mathbf{M}_R :

$$\mathbf{M}_R = \mathbf{M}_\Delta^{-1} \mathbf{M}' \quad (2.12)$$

2.1.2 Ordre de multiplication des matrices

La multiplication de matrices n'étant pas commutative, les matrices du dépolariseur, du déphaseur et de l'élément dichroïque données par l'équation 2.2 dépendent de l'ordre dans lequel on multiplie les matrices.

Les autres cinq possibilités sont les suivantes :

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_{\Delta 2} \mathbf{M}_{D2} \mathbf{M}_{R2} \quad (2.13)$$

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_{R3} \mathbf{M}_{D3} \mathbf{M}_{\Delta 3} \quad (2.14)$$

¹De fait, sur les quinze paramètres nécessaires pour décrire une matrice de Mueller normalisée quelconque, trois sont déterminés par le dichroïque, trois autres par le biréfringent, il en reste donc neuf pour le dépolariseur

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_{D4} \mathbf{M}_{R4} \mathbf{M}_{\Delta 4} \quad (2.15)$$

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_{R5} \mathbf{M}_{\Delta 5} \mathbf{M}_{D5} \quad (2.16)$$

$$\mathbf{M} = \mathbf{M}_{D6} \mathbf{M}_{\Delta 6} \mathbf{M}_{R6} \quad (2.17)$$

Comme démontré par Morio et Goudail [14], ces produits se répartissent en deux familles :

1. Les décompositions 1, 2 et 5 (équations respectives 2.2, 2.13 et 2.16), faisant intervenir le dépolariseur après le diatténuateur forment une première famille de "*décompositions classiques*".
2. Les décompositions 3, 4 et 6 (équations respectives 2.14, 2.15 et 2.17), obtenues lorsque le dépolariseur est placé avant le diatténuateur, forment la "*famille inverse*".

Les décompositions classiques donnent toutes un triplet unique de matrices physiquement réalisables pour toute matrice de Mueller physiquement réalisable et non singulière. En revanche, pour les décompositions de la deuxième famille (famille inverse), l'algorithme de Morio et Goudail ne donne à coup sûr un triplet de matrices physiquement réalisables que si le système peut effectivement être considéré comme l'association des composants élémentaires avec le dépolariseur placé avant le diatténuateur. Si ce n'est pas le cas, cet algorithme peut donner des matrices non physiques (notamment au niveau du diatténuateur), ou peut même s'avérer impossible à mettre en œuvre.

Il n'existait donc pas de méthode de décomposition de type "inverse" (avec le dépolariseur précédant le diatténuateur) en mesure de fournir un triplet de matrices physiques pour toute matrice de Mueller non singulière, à l'instar de la décomposition directe. Ce problème a été résolu par le travail d'Ossikovski *et al.* [3] que nous résumons maintenant.

2.2 Décomposition "inverse"

Le problème essentiel des décompositions de la famille inverse par l'algorithme de Morio et Goudail tient au fait que, comme pour le cas classique, le diatténuateur est déterminé à partir de la diatténuation de l'ensemble, dont la polarisation est rejetée dans la matrice du dépolariseur, qui est donc toujours supposée de la forme définie par l'équation 2.7.

Considérons le cas simple d'un dépolariseur idéal, combiné avec un diatténuateur. Si le diatténuateur est traversé le premier, alors le système composé sera caractérisé par une polarisation nulle et un dichroïsme égal à celui du diatténuateur. Dans le cas inverse où le dépolariseur est placé en premier, le système aura un dichroïsme nul alors que le dichroïsme du diatténuateur sera simplement égal à la *polarisation* de l'ensemble du système.

Il semble donc naturel, si on suppose que dans l'association des trois éléments le diatténuateur vient en dernier, de déterminer sa matrice à partir de la *polarisation*, et non du dichroïsme, de l'ensemble. Le diatténuateur aura donc pour rôle de prendre à son compte la polarisation de l'ensemble, dont c'est le dichroïsme qui doit être inclus dans le dépolariseur. Celui-ci aura donc une matrice de Mueller de la forme :

$$\mathbf{M}_{\Delta r} = \begin{bmatrix} 1 & \vec{D}_{\Delta r} \\ 0 & \mathbf{m}_{\Delta r} \end{bmatrix}, \quad \mathbf{m}_{\Delta r}^T = \mathbf{m}_{\Delta r} \quad (2.18)$$

Avec cette définition, il est facile de montrer que toute matrice de Mueller peut être décomposée suivant la forme inverse. Prenons pour fixer les idées la forme définie par l'équation 2.15. La procédure est similaire à la décomposition classique, en définissant la matrice du diatténuateur comme :

$$\mathbf{M}_D = M_{11} \begin{bmatrix} 1 & \vec{P}^T \\ \vec{P} & \mathbf{m}_P \end{bmatrix} \quad (2.19)$$

où \vec{P} est le vecteur polarisation et non pas le vecteur diatténuation \vec{D} de l'ensemble. Si la matrice \mathbf{M}_D est non singulière, la matrice $\mathbf{M}' = \mathbf{M}_D^{-1}\mathbf{M}$ a une polarisation nulle et peut être décomposée en un produit $\mathbf{M}' = \mathbf{M}_R\mathbf{M}_{\Delta r}$, où \mathbf{M}_R est la matrice d'un retardateur. Ainsi, pour les paramètres de la matrice $\mathbf{M}_{\Delta r}$ de la décomposition inverse, nous obtenons :

$$\vec{D}_{\Delta r} = \frac{\vec{D} - \mathbf{m}\vec{P}}{1 - P^2} \quad (2.20)$$

et

$$\mathbf{m}_{\Delta r} = \pm \left[\left(\mathbf{m}' \right)^T \mathbf{m}' + \left(\sqrt{\lambda_1 \lambda_2} + \sqrt{\lambda_2 \lambda_3} + \sqrt{\lambda_3 \lambda_1} \mathbf{I} \right) \right]^{-1} \times \left[\left(\sqrt{\lambda_1} + \sqrt{\lambda_2} + \sqrt{\lambda_3} \right) \mathbf{m}' \left(\mathbf{m}' \right)^T + \sqrt{\lambda_1 \lambda_2 \lambda_3} \mathbf{I} \right] \quad (2.21)$$

où \vec{D} et \mathbf{m} sont respectivement le vecteur diatténuation et la partie inférieure 3×3 de la matrice \mathbf{M} , \mathbf{m}' est la partie respective de la matrice \mathbf{M}' , λ_i , $i = 1, 2, 3$ sont les valeurs propres de la matrice $\left(\mathbf{m}' \right)^T \mathbf{m}'$ et le signe est celui du déterminant de \mathbf{m}' .

Finalement, la matrice de retardateur \mathbf{M}_R est obtenue à partir de la relation $\mathbf{M}_R = \mathbf{M}'\mathbf{M}_{\Delta r}^{-1}$.

2.3 Validation expérimentale sur des échantillons simples

Nous avons voulu valider expérimentalement le principe de la décomposition inverse. Pour le faire, nous avons utilisé comme données de test les images de Mueller d'un dépolariseur constitué de lait dilué à diverses concentrations, suivi d'un diatténuateur obtenu à l'aide de deux verres inclinés et d'un retardateur (une lame retard en mica). Le diatténuateur était toujours placé après le dépolariseur. Cette expérience a permis de montrer que la décomposition inverse permet de reconstruire fidèlement les éléments des matrices dans tous les cas, tandis que la décomposition classique ne permet d'obtenir des valeurs acceptables que pour la trace de la matrice de dépolarisation, les autres quantités pouvant être entachées d'erreurs importantes [15].

2.3.1 Imageur de Mueller et échantillons

Une description complète de notre dispositif d'imagerie polarimétrique de Mueller est donnée dans le chapitre suivant. La figure 2.1 montre un schéma simplifié de ce dispositif et des échantillons imagés dans cette étude.

Nous notons simplement que le système d'éclairage (composé par une lampe à halogène et une fibre optique) nous permet d'obtenir une illumination suffisamment homogène du champ de vue de l'ordre d'un diamètre de 4 cm. Le générateur d'états de polarisation PSG (acronyme de l'anglais "Polarization State Generator"), composé par un polariseur linéaire suivi par deux cristaux liquides nématiques à retard variable, permet de générer séquentiellement quatre états de polarisation distincts en commutant alternativement les retards des deux cristaux liquides. L'analyseur d'états de polarisation PSA (acronyme de "Polarization State Analyzer"), chargé d'analyser la polarisation de la lumière émergeant de l'échantillon, est composé des mêmes éléments que le PSG, assemblés en sens inverse. La caméra utilisée est une caméra CCD rapide. Durant les mesures, le courant d'obscurité qui dépend de la température de la pièce est fréquemment mesuré et soustrait du signal pour chaque pixel. Un rapport signal sur bruit satisfaisant est obtenu en moyennant typiquement 7 images pour chaque état de polarisation. Il faut 11 secondes pour obtenir un ensemble complet de 16 images moyennées.

Quant aux échantillons test utilisés :

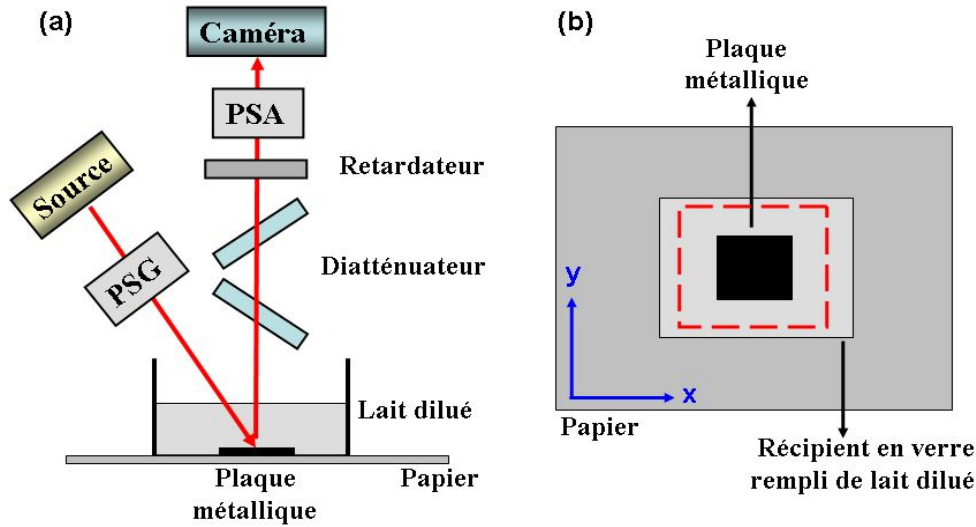


FIG. 2.1 – Dispositif expérimental composé d'un dépolariseur spatialement inhomogène (une plaque métallique placée au fond d'un récipient rempli de lait dilué), suivi d'un diatténuateur (deux lames de verre inclinées), et un retardateur (lame de retard quart d'onde mica)(a) Vue de côté (b) Vue du haut du dépolariseur. Le pointillé rouge représente le champ effectivement imagé sur la caméra CCD.

- Le *biréfringent* est une lame retard commerciale en mica, d'un diamètre utile de 50 mm . Cet élément peut aussi bien être inséré que retiré sans aucun déplacement de l'image du dépolariseur.
- Le *diatténuateur* est formé de deux plaques de verre de fort indice ($n = 1,8$) inclinées comme indiqué sur la figure 2.1, avec le plus grand angle d'incidence possible compatible avec la couverture complète du champ. Cet élément introduit une diatténuation spatialement uniforme de l'ordre de 0,3 et il peut aussi être inséré et retiré sans induire de déplacement significatif de l'image.
- Le *dépolariseur* spatialement inhomogène est obtenu à partir d'un récipient de verre transparent, disposé sur un morceau de papier blanc, avec une petite plaque métallique carrée au centre du champ de vue. Ce récipient est rempli de lait dilué avec de l'eau en concentrations variables. La partie extérieure de l'image, correspondant au papier vu à travers la solution et la base du récipient en verre, présente toujours une forte dépolarisation. Au contraire, au niveau de la plaque métallique, la dépolarisation peut être ajustée pratiquement entre 0 et 1 en changeant la concentration de lait.

Les mesures sont réalisées de la manière suivante : le récipient est tout d'abord rempli de 30 ml d'eau, puis la concentration de lait est graduellement augmentée de 0 à 5 %. Pour chaque concentration, trois images de Mueller sont enregistrées, la première avec uniquement le dépolariseur, la seconde avec le dépolariseur suivi du diatténuateur et la troisième en ajoutant le retardateur aux deux autres éléments.

La figure 2.2 montre un exemple de matrices de Mueller¹ obtenues expérimentalement pour une concentration de lait de 0,6 %. L'image du haut, obtenue avec seulement le dépolariseur, représente la forme attendue pour une suspension de diffuseurs sphériques, i.e. des matrices de Mueller diagonales où $M_{22} = M_{33}$. Comme prévu, la partie centrale de l'image, correspondant à la plaque métallique, possède des éléments de matrices diagonaux de valeur plus élevée que la

¹Il faut noter qu'avec la procédure de calibration telle qu'elle est définie pour notre polarimètre et décrite en détails dans le chapitre suivant, la matrice de Mueller d'un miroir est la matrice unité, tout comme le cas de la propagation dans le vide. Par rapport à la convention la plus répandue, les signes des deux dernières lignes des matrices de Mueller sont changées. Nous faisons ce choix car il facilite grandement la comparaison visuelle des éléments de matrice M_{22} et M_{33} dont les valeurs sont alors presque égales et non presque opposées.

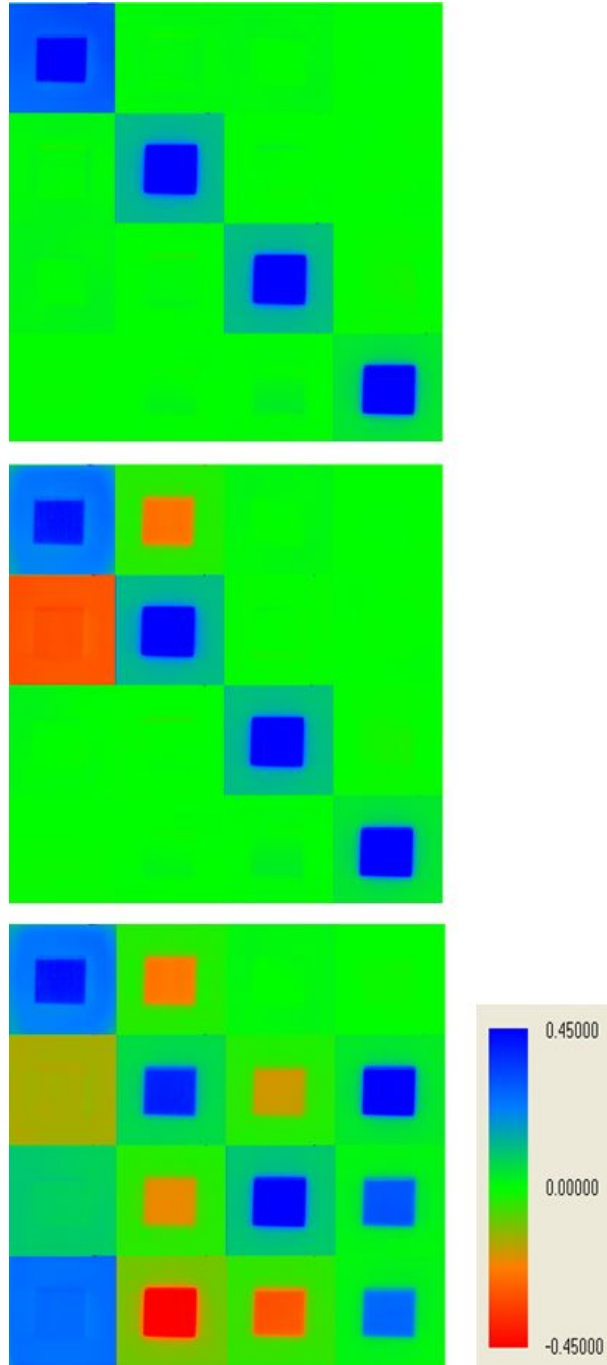


FIG. 2.2 – Images de Mueller acquises avec une concentration de lait de 0,6 %. En haut : dépolariseur seul. Milieu : dépolariseur et diatténuateur. Bas : dépolariseur, diatténuateur et retardateur. Tous les éléments de la matrice, exceptée la réflectivité non polarisée M_{11} sont normalisés par M_{11} . Pour toutes les figures, l'intensité correspond à l'échelle de couleur donnée en bas à droite.

périphérie, correspondant au morceau de papier.

Pour l'image du milieu, nous avons incorporé le diatténuateur, de telle manière que ses axes soient alignés suivant les axes de référence des matrices de Stokes et Mueller (les directions x et y sur le panel de droite de la figure 2.1). Là encore, les images de Mueller mesurées présentent la forme attendue : par rapport à l'image précédente, seuls les coefficients M_{12} et M_{21} sont affectés. En outre, la diatténuation observée M_{12} est significative seulement au niveau de la plaque métallique et disparaît presque complètement sur la partie périphérique en raison de

la forte dépolarisation caractéristique du morceau de papier. Au contraire, la polarisance M_{21} est uniforme, comme attendu un diatténuateur placé après le dépolariseur et couvrant tout le champ de vue.

Finalement, dans l'image du bas obtenue lorsque le retardateur est rajouté au diatténuateur, les éléments du bloc inférieur 3×4 sont mélangés par la matrice de rotation décrivant le retardateur.

2.3.2 Methode d'analyse des données

Dans cette partie, nous appliquons les deux décompositions, classique et inverse, pour chaque matrice de Mueller mesurée. Pour chacun des deux algorithmes, nous évaluons la précision sur le dépolariseur, le diatténuateur et le retardateur fournis par la décomposition en les comparant aux données obtenues pour chacun de ces éléments mesuré séparément. Plus précisément, la qualité de la "reconstruction" du diatténuateur et du retardateur est évaluée par la constance de la diatténuation scalaire et du retard pour chaque image et pour chaque concentration de lait étudiée.

La précision de \mathbf{M}_D est évaluée avec plus de précision, par comparaison avec les mesures effectuées avec le dépolariseur seul. Nous avons comparé les deux indicateurs habituellement utilisés pour caractériser le pouvoir dépolarisant d'un système décrit par une matrice de Mueller :

1. La dépolarisation moyenne (équation 1.40) aisément applicable à toute matrice de Mueller.
2. La dépolarisation diagonale (équation 1.57), adaptée uniquement aux dépolariseurs décrits par les équations 2.7 et 2.18.

Ces deux paramètres, varient entre 0 pour une matrice non dépolarisante, à 1 pour un dépolariseur parfait.

Les résultats sur les trois montages : dépolariseur seul, dépolariseur suivi par le diatténuateur et système complet avec l'addition du retardateur, sont résumés dans les paragraphes qui suivent.

2.3.3 Résultats

Dépolariseur seul

Toutes les images obtenues avec le dépolariseur seul sont semblables au panneau du haut de la figure 2.2, avec toutefois, une diminution du contraste et de la netteté de l'image au fur et à mesure que la concentration de lait augmente (ceci peut être vu sur le haut de la figure 2.3). Ce comportement est celui attendu pour une diffusion de lumière en volume intervenant dans la solution de lait.

Les valeurs des indices de dépolarisation Δ_M et Δ_D mesurés au centre de l'image et moyennés sur 10×10 pixels sont tracées sur le graphe du bas sur la figure 2.3 : ces indices sont pratiquement identiques, comme attendu pour des matrices de Mueller essentiellement diagonales.

Système dépolariseur-diatténuateur

Nous présentons maintenant les résultats obtenus lorsque le diatténuateur est placé après le dépolariseur, pour les mêmes valeurs de concentration de lait. Le dichroïsme du diatténuateur reste donc constant pour toute cette série de mesures, alors que la dépolarisation du système augmente avec la concentration de lait.

Les valeurs de dichroïsme scalaire du diatténuateur déduites des deux décompositions sont représentées sur la figure 2.4. Le panel de gauche montre la variation spatiale de la diatténuation

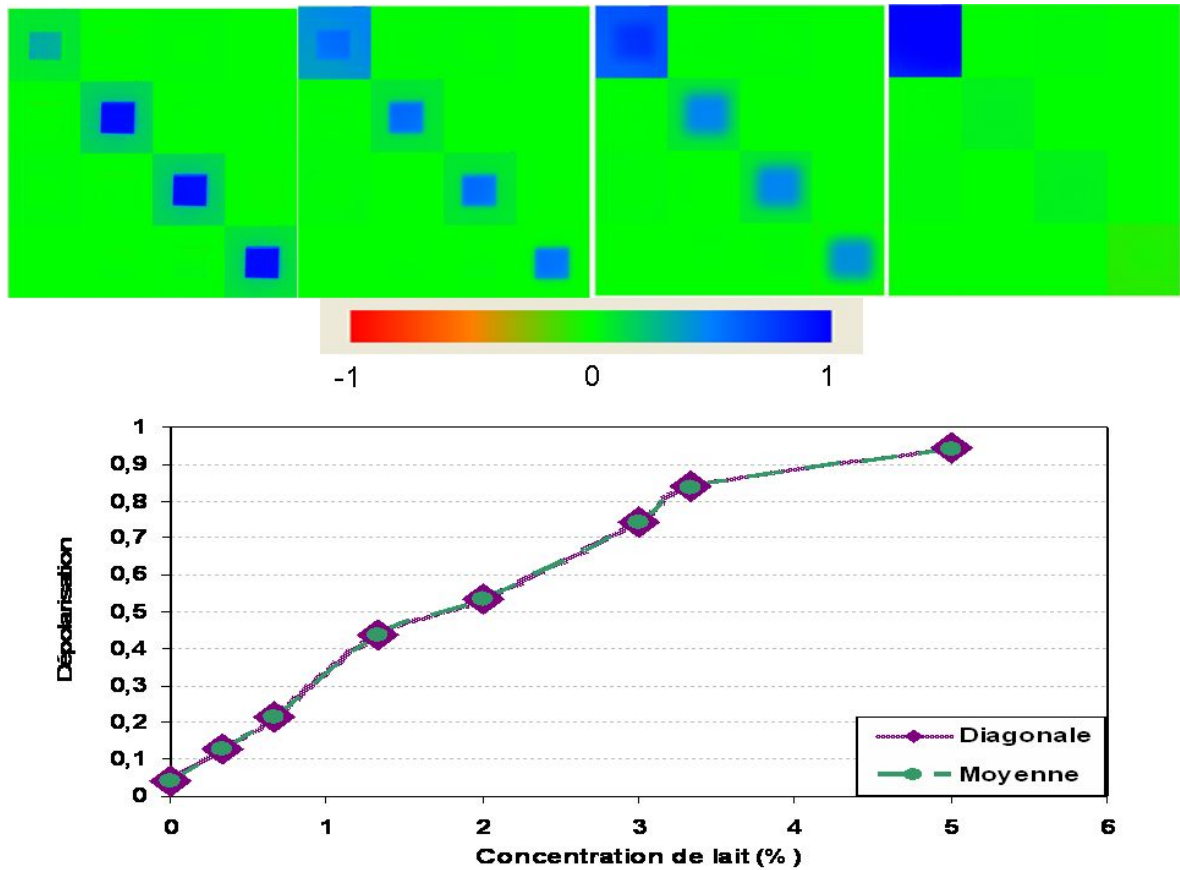


FIG. 2.3 – En haut : matrices de Mueller pour le dépolariseur seul à concentrations de lait (de gauche à droite) : 0, 1,33, 2 et 5 %. En bas : dépolarisation moyenne et diagonale au centre des images du dépolariseur seul, à différentes concentrations de lait. La ligne joignant les points expérimentaux est un guide pour l'oeil.

le long du champ de vue, là encore pour une concentration de lait de 0,6 %. Alors que la décomposition inverse fournit la diatténuation uniforme attendue (sauf sur les bords de la plaque métallique où on observe des artefacts dus à l'ombre), la décomposition classique montre une décroissance brutale de la diatténuation sur la zone extérieure de la figure, là où la dépolarisation est forte. Une description plus quantitative de cet effet est donnée sur le panel de droite de la même figure, où les diatténuations obtenues par les deux décompositions au centre de la plaque sont représentées en fonction de la concentration de lait.

La décroissance erronée de la diatténuation produite par la décomposition classique s'explique par le fait que dans cette procédure, le diatténuateur est défini à partir de la diatténuation de tout le système, c'est-à-dire à partir de la dépendance de l'intensité réfléchie sur la polarisation incidente. Si le dépolariseur est traversé avant le diatténuateur, alors la dépolarisation est plus forte à l'entrée et la transmission du système complet dépend moins de la polarisation incidente. Par opposition, dans la décomposition inverse, la diatténuation est obtenue à partir de la polarisation de tout le système, c'est-à-dire de sa capacité de polariser une lumière initiale non polarisée. Le dépolariseur étant placé au début, il ne change pas l'état d'une lumière initialement non-polarisée et la polarisation est entièrement due au diatténuateur situé après. La diatténuation évaluée à partir de la polarisation est alors indépendante de la dépolarisation, comme attendu.

Considérons maintenant la dépolarisation. Sur la figure 2.5, nous présentons les matrices de dépolarisations \mathbf{M}_{Δ} et $\mathbf{M}_{\Delta r}$ (normalisées par M_{11}) obtenues par les deux procédures pour la concentration de 0,6 %. Là encore, la décomposition inverse reconstruit correctement la matrice

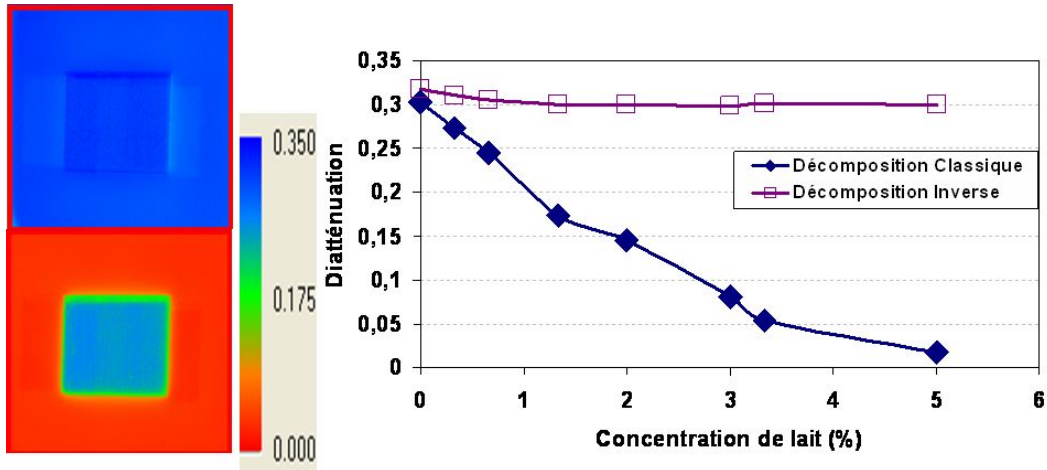


FIG. 2.4 – Diatténuation scalaire obtenue à partir des décompositions classique (en bas) et inverse (en haut) des images lorsque le dépolariseur est suivi du diatténuateur. Gauche : images complètes pour une concentration de lait de 0,6 %. Droite : diatténuation scalaire au centre de l'image en fonction de la concentration.

de Mueller diagonale du dépolariseur seul, tandis que la décomposition directe introduit une polarisation fortement inhomogène à l'échelle spatiale dans \mathbf{M}_Δ afin de "prendre à son compte" la polarisation du système total. Cependant, les termes diagonaux des deux depolariseurs reconstruits sont très proches, indiquant que les deux procédures permettent d'obtenir des valeurs de la dépolarisation diagonale proches.

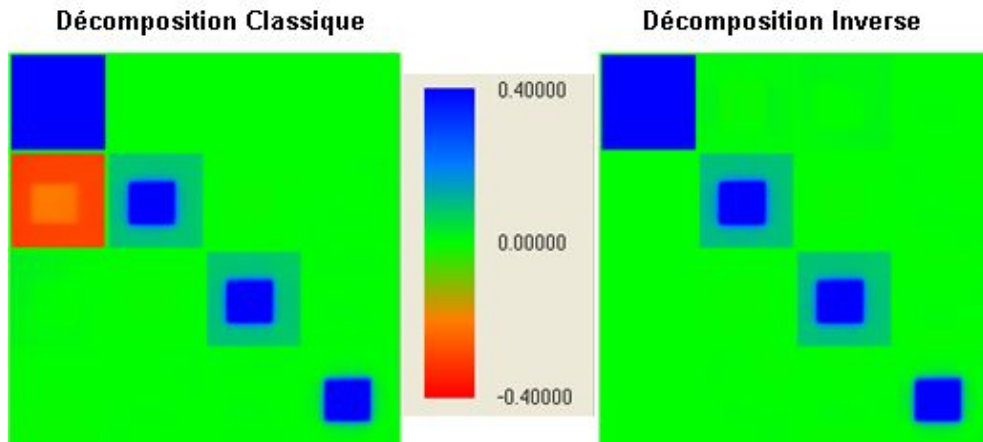


FIG. 2.5 – Matrices des dépolariseurs \mathbf{M}_Δ et \mathbf{M}_{Δ_r} obtenues par les décompositions respective-ment classique (à gauche) et inverse (à droite) pour le dépolariseur (concentration de lait 0,6 %) suivi par le diatténuateur. Ces matrices sont normalisées par le M_{11} . L'échelle en couleur utilisée est présentée au milieu de la figure (Les valeurs du M_{11} dépassent les limites de l'échelle).

Comme pour le dépolariseur pur, nous intégrons sur 10×10 pixels au centre de la figure pour comparer les différents indices de dépolarisation disponibles en fonction de la concentration de lait. Sur la figure 2.6, nous traçons les valeurs absolues des différences entre ces indices et la dépolarisation mesurée sur la solution de lait seule. Concernant la dépolarisation diagonale, même si les deux procédures donnent des valeurs similaires entre elles et proches de celle du dépolariseur seul, la décomposition inverse est toujours plus précise.

Le comportement de la dépolarisation moyenne est différent. Cet indice est typiquement celui qui est utilisé pour caractériser le pouvoir de dépolarisation de toute matrice d'entrée sans aucun autre traitement. Nos résultats montrent clairement que pour de fortes valeurs de dé-

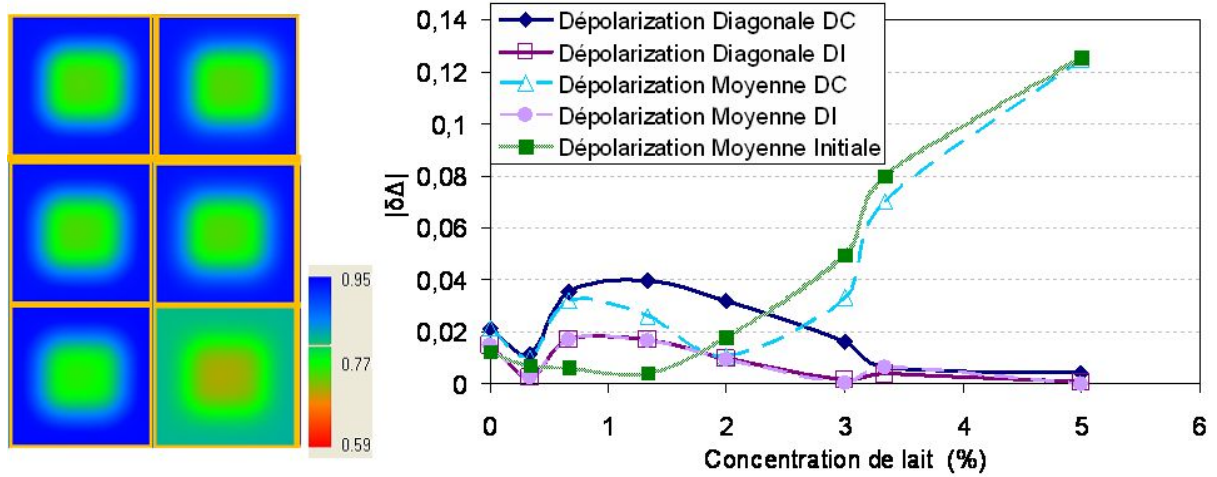


FIG. 2.6 – Indices de dépolarisation obtenus par les deux décompositions pour le dépolariseur suivi par un diatténuateur, comparés avec la dépolarisation du dépolariseur seul. A gauche : images complètes, pour une concentration de lait de 3 % : dépolarisation diagonale (première colonne) et moyenne (deuxième colonne) pour le dépolariseur seul (première ligne) et pour le système du dépolariseur suivi par le diatténuateur calculé avec la décomposition inverse DI (deuxième ligne) et par la décomposition classique DC (troisième ligne). A droite : variation de la valeur absolue de la différence $|\delta\Delta|$ des divers indices de dépolarisation et la dépolarisation mesurée pour le dépolariseur seul, en fonction de la concentration de lait.

polarisation, cet indice dévie significativement de la référence obtenue sur le dépolariseur seul. Quand la décomposition classique est appliquée, la dépolarisation moyenne de la matrice résultante \mathbf{M}_Δ est proche de celle de \mathbf{M} : la décomposition classique n'améliore pas la précision de la caractérisation du pouvoir dépolarisant défini par Δ_M . Par opposition, avec la décomposition inverse, l'indice Δ_M évalué avec $\mathbf{M}_{\Delta r}$ est proche des valeurs de référence du dépolariseur seul, comme on l'attend si la décomposition doit fournir des informations nouvelles et précises. A cet effet, nous soulignons que sur la figure 2.6, la dépolarisation diagonale et moyenne produites par la décomposition inverse sont identiques.

Résultats pour le système dépolariseur-diatténuateur-rétardateur

Nous présentons maintenant les données obtenues avec les trois éléments en série. Les propriétés scalaires de la diatténuation fournies par les deux décompositions restent identiques à celles montrées sur la figure 2.4 à près de 10^{-3} . Les retards scalaires produits par les deux décompositions sont remarquablement constants lorsque la dépolarisation varie (figure 2.7). En outre, leurs valeurs sont pratiquement égales.

Les matrices de dépolarisation obtenues à l'aide des deux décompositions sont représentées sur la figure 2.8. Là encore, seule la décomposition inverse permet d'obtenir une matrice essentiellement diagonale, alors que le mélange des éléments de la sous-matrice 3×4 dû au retardateur n'est pas complètement éliminé par la décomposition classique. En particulier, les termes diagonaux sont entachés de fortes erreurs en dehors de la plaque métallique. En revanche, tous les indices de dépolarisation gardent la même valeur que celle obtenue en l'absence de retardateur (figure 2.6), indiquant ainsi que les quantités scalaires, telles que typiquement la trace de la sous-matrice 3×3 des matrices de dépolarisation ne sont pas affectées par le retardateur, comme prévu. Cette invariance peut être exploitée si on s'intéresse seulement aux quantités scalaires, mais pour des études plus détaillées, en particulier celles qui font intervenir un modèle physique pour le dépolariseur, comme distinction entre régimes de diffusion de Ray-

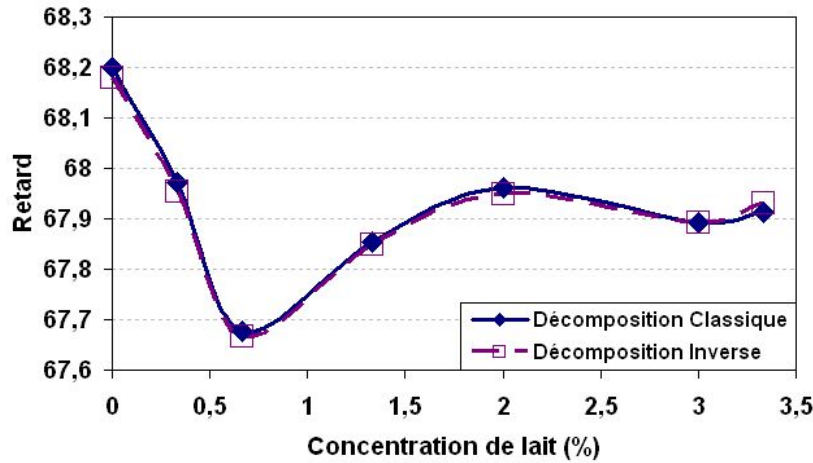


FIG. 2.7 – Retard pour un système d’un dépolariseur suivi par un diatténuateur suivi par un retardateur calculé respectivement par les décompositions classique et inverse.

leigh ou de Mie par exemple [16], les quantités scalaires ne sont plus suffisantes : tous les termes diagonaux de la matrice de Mueller caractérisant le dépolariseur sont nécessaires. Dans un tel cas, la décomposition directe, en surestimant le terme M_{44} par rapport aux deux autres termes diagonaux (voir figure 2.8), mènerait à la conclusion erronée que la diffusion est de type Mie alors que la décomposition inverse met correctement en évidence le fait que la dépolarisation est plus forte pour la polarisation circulaire que pour la linéaire, et donc que la diffusion est dominée par une contribution de type Rayleigh.

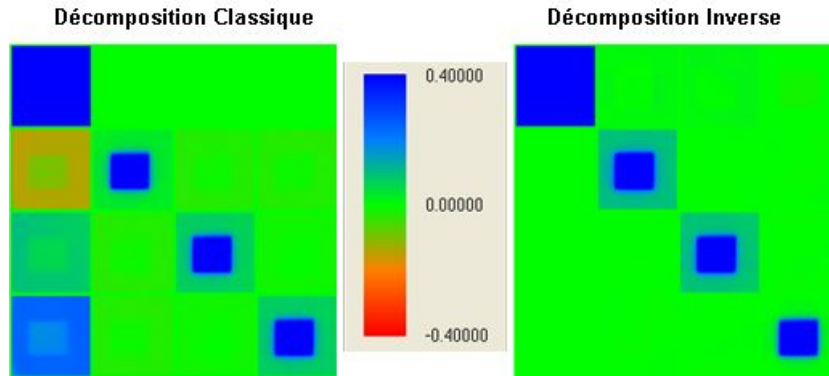


FIG. 2.8 – Matrices de dépolariseurs obtenues respectivement par les décompositions classique (à gauche) et inverse (à droite) pour un système d’un dépolariseur, suivi par un diatténuateur, suivi par un retardateur.

2.4 Intérêt potentiel des décompositions sur des applications biomédicales

Nous présentons maintenant le premier test des deux décompositions, classique et inverse, sur des échantillons de tissus réels. Les résultats de la diatténuation et de la dépolarisation d’un échantillon de viande de porc sont présentés sur la figure 2.9. Les images de dépolarisation pure (la dépolarisation diagonale du dépolariseur fourni par la décomposition) (b) et (d) sont exactement les mêmes pour les deux décompositions, alors que l’image de la diatténuation obtenue après la décomposition inverse (a) révèle plus de détails que celle obtenue par décomposition classique (b). Nous pensons que la décomposition inverse est mieux adaptée à des échantillons

biologiques car la peau est probablement mieux modélisée par un système composé d'un dépolariseur suivi d'un diatténuateur plutôt que l'inverse.

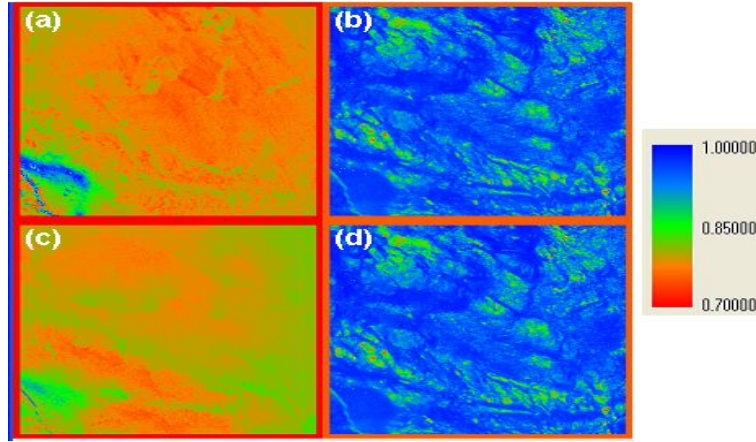


FIG. 2.9 – Diatténuation à gauche ((a) et (c)) et dépolarisation à droite ((b) et (d)) obtenues respectivement par les décompositions inverse en haut ((a) et (b)) et directe en bas ((c) et (d)) sur un échantillon de viande de porc.

Pour étayer notre propos, nous présentons un argument sur la figure 2.10. En première approximation, on peut considérer que la fraction de la lumière incidente transmise dans l'échantillon peut dépendre de son état de polarisation, compte tenu de l'angle d'incidence sur le point d'entrée. Autrement dit, le dichroïsme éventuellement présent est lié à la structure de l'échantillon telle qu'elle est vue par la lumière à l'entrée. Ceci étant, la lumière ne ressort qu'après un processus de diffusion qui comporte certainement aussi de la dépolarisation. Ce processus de diffusion induit donc une dégradation de l'information spatiale concernant la structure du tissu du côté de l'entrée du rayon.

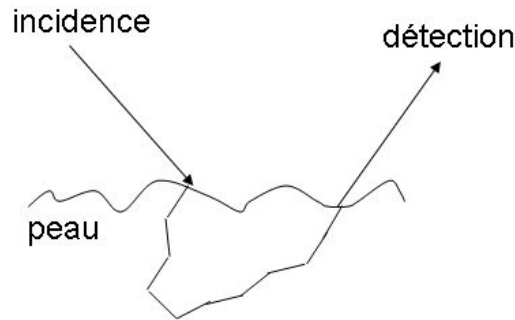


FIG. 2.10 – Chemin typique de la lumière dans un tissu.

En conséquence, l'image de diatténuation obtenue par la décomposition classique, et qui reflète le dichroïsme à l'entrée, apparaît floue. Par contre, avec la décomposition inverse, la diatténuation est calculée à partir de la polarisation, qui, elle est liée à la diatténuation de la face de sortie et ne souffre d'aucun brouillage dû à la propagation. Donc, l'image de diatténuation obtenue par la décomposition inverse est assurément plus nette et apporte diverses informations concernant la structure de l'échantillon. En ce sens, nous pouvons même distinguer les effets de "surface" de ceux de "volume".

Afin d'atteindre une meilleure précision, l'idéal serait de modéliser la peau par un diatténuateur suivi d'un dépolariseur puis encore d'un diatténuateur. Cette décomposition "symétrique" est à l'étude. De cette façon, nous pourrions prendre en compte simultanément les deux interfaces et la dépolarisation, a priori diagonale, qui a lieu entre les deux.

2.5 Conclusion

Ayant d'abord présenté la décomposition classique et ensuite la décomposition inverse, nous avons prouvé expérimentalement la validité de cette dernière dans le cas de systèmes optiques dont le dépolariseur est placé avant le diatténuateur. Contrairement à la méthode classique de Lu et Chipman qui donne des valeurs erronées pour la diatténuation scalaire en présence de fortes dépolarisations, la décomposition inverse permet d'obtenir les valeurs précises pour chaque élément de décomposition (dépolarisation, diatténuation, retard), tout en gardant une matrice de dépolarisation diagonale. L'intérêt potentiel de cette méthode pour l'étude de tissus réels en vue d'applications biomédicales a été vérifié expérimentalement. Un échantillon est alors modélisé comme un dépolariseur (dans le volume du tissu) suivi d'un diatténuateur (la surface de l'échantillon), dont les propriétés sont mieux mises en évidence que par la décomposition classique. Cet algorithme ouvre de nouvelles possibilités pour le traitement des images polarimétriques.

Deuxième partie

**Instrumentation en Imagerie
Polarimétrique**

Chapitre 3

Le polarimètre imageur de Mueller en réflexion

Ce chapitre décrit l'imageur de Mueller en réflexion monté dans notre laboratoire. Il s'agit d'une version améliorée du polarimètre en transmission décrit dans la référence [17]. Nous avons utilisé cet instrument d'une part pour la validation expérimentale de la décomposition inverse des matrices de Mueller [15], objet du chapitre 2, et d'autre part pour les études, ex-vivo et in-vivo, du syndrome cutané radio-induit sur modèle animal, ainsi que les études ex-vivo des dysplasies du col utérin décrites dans la suite.

Nous commençons par le principe de la mesure d'une matrice de Mueller et les conditions théoriques de minimisation des erreurs, puis nous expliquons le choix des modulateurs à cristaux liquides nématiques, avant de décrire l'ensemble de notre montage expérimental et la procédure d'étalonnage.

La dernière partie de ce chapitre est dédiée à l'optimisation effective du polarimètre, qui a porté non seulement sur la mise en œuvre des critères théoriques d'optimisation des mesures via les tensions appliquées aux cristaux liquides, mais aussi sur d'autres aspects essentiels en pratique, comme les corrections des fluctuations de l'intensité de la source lumineuse, de la non-linéarité de la caméra et des effets de dérive de la température ambiante sur le fonctionnement des modulateurs et analyseurs de polarisation.

Une fois ces corrections mises en place, nous évaluons la précision des mesures de notre polarimètre en utilisant comme échantillons test un polariseur et une lame retard à différents angles.

3.1 Principe de la mesure

Un polarimètre comporte dans son bras d'entrée une source lumineuse suivie d'un générateur d'états de polarisation ou PSG (acronyme du terme anglais Polarization State Generator). Suivant la configuration utilisée le faisceau est ensuite soit réfléchi, soit transmis par l'échantillon étudié. La lumière passe ensuite par un analyseur d'états de polarisation ou PSA (acronyme du terme anglais Polarization State Analyzer) avant d'atteindre le détecteur (figure 3.1).

La matrice de Mueller \mathbf{M} de l'échantillon est déterminée à partir d'un ensemble de mesures d'intensité réalisées avec des états de polarisation différents au niveau du PSG et du PSA. Cette détermination demande un minimum de seize mesures, impliquant quatre états différents au niveau du PSG et quatre autres au niveau du PSA. Bien entendu, on peut réaliser plus de

mesures pour surdéterminer \mathbf{M} , ce qui peut présenter des avantages pour l'estimation de la précision obtenue, et éventuellement pour améliorer celle-ci. Cependant cette surdétermination allonge inévitablement le temps d'acquisition, ce qui nous a conduits à prendre en considération uniquement les configurations minimales à seize mesures décrites dans la suite, et qui se sont avérées tout à fait satisfaisantes du point de vue de la précision.

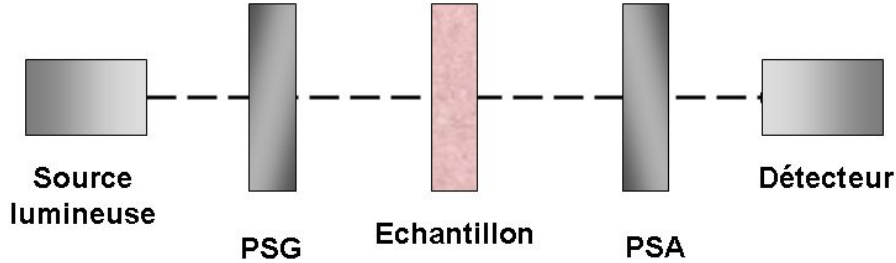


FIG. 3.1 – Schéma du principe d'un polarimètre de Mueller.

Le PSG module le vecteur de Stokes de la lumière incidente sur l'échantillon. On définit la matrice de modulation \mathbf{W} comme la matrice 4×4 dont les vecteurs colonnes sont les quatre vecteurs de Stokes décrivant les quatre états de polarisation indépendants générés par le PSG [17] [18] .

De même, le PSA analyse la polarisation de la lumière provenant de l'échantillon, en projetant son vecteur de Stokes sur quatre états de polarisation indépendants avant d'atteindre le détecteur. Il est caractérisé, de la même manière que le PSG, par une matrice d'analyse 4×4 \mathbf{A} .

Le détecteur mesure seize intensités qui forment la matrice 4×4 \mathbf{B} des mesures brutes qui n'est autre que le produit

$$\mathbf{B} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M} \cdot \mathbf{W} \quad (3.1)$$

d'où on extrait facilement la matrice de Mueller \mathbf{M} de l'échantillon par

$$\mathbf{M} = \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{B} \cdot \mathbf{W}^{-1} \quad (3.2)$$

à condition de connaître les matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} . Dans notre cas, ces matrices sont déterminées par une procédure d'étalonnage basée sur la méthode ECM (acronyme du terme anglais Eigenvalues Calibration Method) [19] et décrite brièvement dans la suite.

3.2 Critère général d'optimisation des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A}

Dans la pratique le choix des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} peut être imposé soit par la conception même de l'instrument, soit par la procédure d'étalonnage, qui peut conduire à retenir des états de base faciles à caractériser, tels que des polarisations linéaires horizontale, verticale, inclinée à 45° et circulaire. Si on peut effectivement construire des matrices de modulation et d'analyse non singulières à partir de ces états, en revanche ces matrices ne sont pas forcément optimisées pour la propagation des erreurs entre la mesure brute \mathbf{B} et la matrice finale \mathbf{M} .

De nombreuses études ont été consacrées à ce problème de propagation des erreurs, tant relatives [20] [21] [22], qu'absolues [23] [24]. D'une manière générale, pour minimiser les erreurs sur \mathbf{M} il est nécessaire que les matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} soient *bien conditionnées*, comme nous le rappelons brièvement ci-dessous.

Si nous écrivons les matrices \mathbf{M} et \mathbf{B} sous forme de deux vecteurs à seize composantes \vec{M} et \vec{B} , nous pouvons récrire l'équation 3.2 sous la forme [22] :

$$\vec{M} = \mathbf{Q}^{-1} \cdot \vec{B} \quad (3.3)$$

où la matrice 16×16 \mathbf{Q} n'est autre que le produit de Kronecker

$$\mathbf{Q} = \mathbf{W}^t \otimes \mathbf{A}. \quad (3.4)$$

Par conséquent, le bruit $\delta\mathbf{M}$ sur la matrice de Mueller \mathbf{M} s'écrit également

$$\delta\vec{M} = \mathbf{Q}^{-1} \cdot \delta\vec{B} \quad (3.5)$$

Si nous supposons que le bruit $\delta\vec{B}$ sur les mesures brutes est un bruit additif gaussien, ce qui est raisonnable en éclairage incohérent (donc en l'absence de speckles), le bruit $\delta\vec{M}$ dépend uniquement du choix de la matrice \mathbf{Q}^{-1} et donc, de \mathbf{A}^{-1} et \mathbf{W}^{-1} .

Quelle que soit la définition de la norme des vecteurs et des matrices retenue, l'équation 3.5 implique que la norme de $\delta\vec{M}$ est inférieure ou égale au produit des normes de deux autres matrices

$$\|\delta\vec{M}\| \leq \|\mathbf{Q}^{-1}\| \cdot \|\delta\vec{B}\| \quad (3.6)$$

De la même façon à partir de l'équation 3.3 nous obtenons :

$$\|\vec{M}\| \geq \frac{\|\vec{B}\|}{\|\mathbf{Q}\|} \quad (3.7)$$

Par division membre à membre des équations ci-dessus, nous obtenons une majoration de l'erreur relative sur \mathbf{M}

$$\frac{\|\delta\vec{M}\|}{\|\vec{M}\|} \leq \|\mathbf{Q}^{-1}\| \cdot \|\mathbf{Q}\| \cdot \frac{\|\delta\vec{B}\|}{\|\vec{B}\|} \quad (3.8)$$

Le produit $\|\mathbf{Q}^{-1}\| \cdot \|\mathbf{Q}\|$ qu'il faut minimiser, n'est autre que le *conditionnement* $C(\mathbf{Q})$ de la matrice \mathbf{Q} . Le conditionnement est une grandeur toujours supérieure ou égale à 1. Il devient égal à 1 pour une matrice unitaire et il tend vers l'infini pour une matrice singulière. De plus, par définition $C(\mathbf{Q}) = C(\mathbf{Q}^{-1})$ et on montre facilement que :

$$C(\mathbf{Q}) = C(\mathbf{W}^t) \cdot C(\mathbf{A}) = C(\mathbf{W}) \cdot C(\mathbf{A}) \quad (3.9)$$

d'où résulte que l'optimisation de la propagation des erreurs *relatives* entre \mathbf{B} et \mathbf{M} revient à minimiser séparément le conditionnement des matrices de modulation et d'analyse.

En ce qui concerne les erreurs *absolues* sur \mathbf{M} , l'équation 3.5 indique que pour une norme donnée de $\delta\vec{B}$ il faut minimiser la norme de \mathbf{Q}^{-1} , et donc les normes de \mathbf{W}^{-1} et de \mathbf{A}^{-1} directement. Or le plus souvent (et ce sera notamment le cas pour les dispositifs décrits plus loin) les états de base des PSG et PSA sont totalement polarisés, et l'optimisation ne porte que sur leur répartition sur la sphère de Poincaré. Dans ces conditions, on montre que la norme des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} varie peu (voire pas du tout pour la norme de Frobenius), alors que celle des matrices inverses varie beaucoup plus en fonction de cette répartition (en particulier elle tend vers l'infini lorsque \mathbf{W} ou \mathbf{A} se rapprochent de matrices singulières, i.e. lorsque deux au moins des quatre états de base deviennent très proches sur la sphère de Poincaré). Donc pour les matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} la variation du conditionnement, qui définit les erreurs relatives sur \mathbf{M} , est dominée par la variation de la norme des matrices inverses, ce qui permet de conclure que la

minimisation du conditionnement des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} minimise à la fois les erreurs relatives et les erreurs absolues sur la matrice de Mueller \mathbf{M} .

Il reste à définir la norme à utiliser effectivement. Le choix conceptuellement le plus simple est celui de la norme euclidienne pour les vecteurs et de sa généralisation (norme de Frobenius) pour les matrices. Cependant, il est facile de montrer qu’avec ce choix, les inégalités comme celles définies par l’équation 3.6 ne se réduisent jamais à des égalités pour des matrices non singulières, et donc les majorants ne sont pas optimaux. En revanche, si on prend pour norme d’une matrice quelconque la racine de la plus grande de ses valeurs singulières [25], alors il existe toujours au moins un vecteur pour lequel l’inégalité 3.6 devient une égalité, et les majorations des bruits sur \mathbf{M} sont optimales. Le critère retenu est donc celui basé sur cette dernière norme.

3.3 Générateurs et analyseurs d’états de polarisation à cristaux liquides nématiques

Il existe de nombreuses méthodes pour obtenir un générateur ou un analyseur d’états de polarisation : polariseur linéaire suivi d’une lame retard tournante [24] [26] [27], [28], de cellules de Pockels [29], de modulateurs photoélastiques [30] [31] ou de cristaux liquides [32] [33]. Il s’agira toujours de moduler la polarisation de la lumière en utilisant les propriétés de biréfringence des matériaux. La technique que nous avons choisie met en œuvre des modulateurs à cristaux liquides *nématiques*, pour des raisons qui apparaîtront après une brève description de leur fonctionnement.

3.3.1 Lames retard variables à cristaux liquides nématiques

Les cristaux liquides nématiques sont des matériaux biréfringents, composés de molécules fortement anisotropes qui ont tendance à s’aligner spontanément les unes par rapport aux autres. De plus, quand elles sont soumises à un champ électrique extérieur, elles ont également tendance à s’aligner sur ce champ. Ces caractéristiques permettent de les utiliser pour réaliser des composants optiques équivalents à des lames retard d’ordre faible ou nul, dont l’axe est fixe et le retard varie en fonction d’une tension de commande, comme le montre la figure 3.3 pour le modèle LVR-300 de Meadowlark Optics que nous avons utilisé pour réaliser l’imageur. Ce type de composant permet de commuter la polarisation automatiquement au moyen d’un ordinateur, avec un temps de commutation typique de l’ordre de quelques dizaines de ms. La gamme de retards accessibles est limitée à un peu plus de $\lambda/2$ à 633 nm.

Ces composants comportent deux fenêtres optiques parallèles de verre de silice, avec un revêtement d’oxyde d’indium-étain (ITO, acronyme pour le terme anglais Indium Tin Oxide), un matériau transparent et conducteur. La couche d’ITO permet de maximiser la transmission du composant entre 450 et 1800 nm (figure 3.3 (b)). Une couche mince d’un matériau diélectrique polymère rainuré est appliquée sur la couche d’ITO afin de forcer l’alignement moléculaire du cristal liquide dans une direction déterminée. Les deux fenêtres sont espacées de quelques microns et leur interstice est rempli par le cristal liquide (figure 3.2 (a)).

Le nématique s’organise dans la cellule en couches biréfringentes uniaxiales (figure 3.2 (a)). Les molécules s’alignent en moyenne avec leurs axes longs parallèles, mais avec leurs centres distribués de manière arbitraire. C’est l’axe long des molécules qui définit l’indice extraordinaire (axe lent) du système. Sans aucune tension appliquée, les molécules sont arrangées parallèlement aux fenêtres optiques le long de la direction définie par la couche d’ancrage sur l’ITO, configuration qui génère le retard maximum.

Quand une tension est appliquée sur les électrodes d’ITO, l’orientation des molécules change en se rapprochant de la normale aux fenêtres (la direction du champ appliqué) (figure 3.2 (b)).

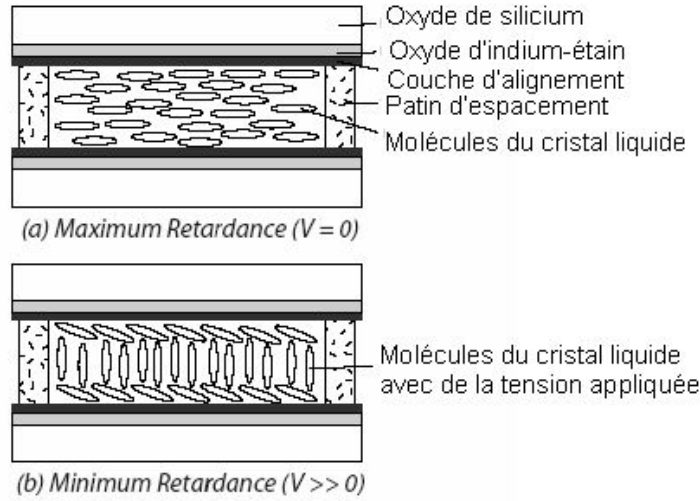


FIG. 3.2 – Configuration des molécules du cristal liquide sans et avec une tension appliquée [34].

Plus la tension augmente, plus les molécules tournent et plus la biréfringence effective vue par un rayon traversant la cellule perpendiculairement aux fenêtres, et donc le retard, diminuent (figure 3.3 (a)). Ceci étant, les molécules proches des fenêtres restent alignées sur la couche d'ancrage, ce qui explique la différence de marche résiduelle entre les deux polarisations, de l'ordre de 30 nm, observée même pour les tensions les plus élevées utilisables (de l'ordre de 20 V).

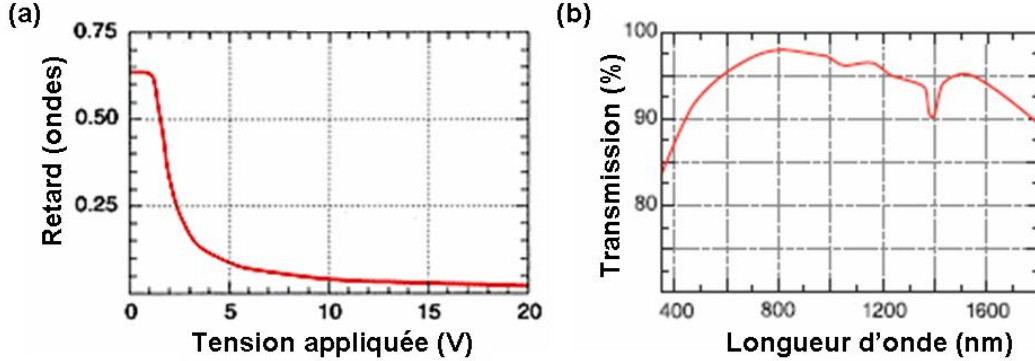


FIG. 3.3 – Propriétés optiques des cristaux liquides nématiques : retard en fonction de la tension appliquée à 632,8 nm et 21°C (a) et transmission en fonction de la longueur d'onde (b) [34].

Le retard δ est finalement déterminé par :

1. L'épaisseur d de la couche du cristal liquide,
2. La biréfringence effective du cristal liquide $\Delta n(V, T, \lambda)$, qui dépend de la tension appliquée, de la température¹ et de la longueur d'onde de la lumière incidente,
3. La longueur d'onde,

selon la relation [5] [7] :

$$\delta(V, T, \lambda) = 2\pi d \Delta n(V, T, \lambda) / \lambda \quad (3.10)$$

Comme on l'a vu, pour $V = 0$, $\Delta n = (n_e - n_o)$ prend sa valeur maximale, et par conséquent δ aussi. Pour $V > V_s$, où V_s est la tension de seuil, la biréfringence effective décroît brutalement avec l'augmentation de la tension et elle sature graduellement. La pente dépend de la constante

¹ Avec l'augmentation de la température, le retard diminue approximativement de -0,4% per °C [34].

élastique, de la constante diélectrique et de l'indice de réfraction du matériau nématique. Pour $V \gg V_s$, pratiquement toutes les molécules du volume, à l'exception des couches limites, sont alignées en présence du champ perpendiculairement aux substrats. Ainsi, une augmentation supplémentaire de la tension appliquée provoque seulement un petit changement au niveau de l'orientation des couches limites. Dans ce régime, la biréfringence effective est inversement proportionnelle à la tension appliquée, avec une différence de marche résiduelle de l'ordre de 30 nm pour les tensions maximales utilisables (de l'ordre de 20 V efficaces).

3.3.2 Configurations polarimétriques optimisées

Générateur d'états de polarisation

Afin de générer quatre vecteurs de Stokes linéairement indépendants, le PSG comprend un polariseur linéaire orienté suivant l'axe x , suivi de deux cristaux liquides nématiques que l'on considère comme des déphaseurs parfaits (figure 3.4).

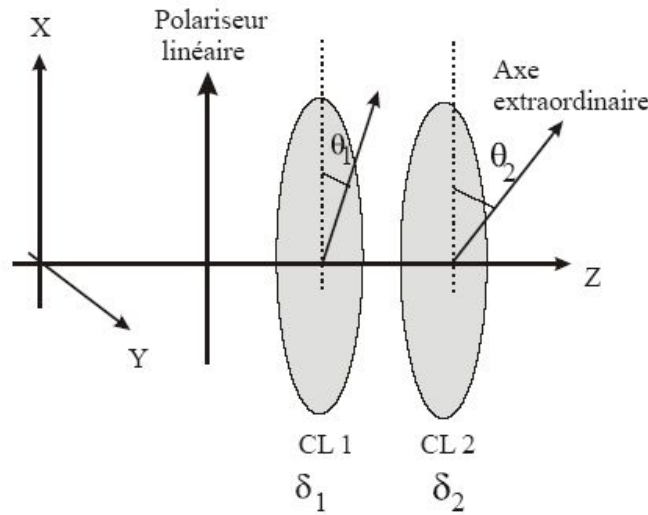


FIG. 3.4 – Schéma du PSG constitué d'un polariseur linéaire suivi de deux cellules à cristaux liquides nématiques (CL1 et CL2) de déphasages δ_1 et δ_2 dont l'axe extraordinaire (axe d'indice variable) est orienté à θ_1 et θ_2 par rapport à la direction du polariseur [18].

La lumière se propage suivant l'axe z . Dans cette configuration, le vecteur de Stokes de la lumière sortant du PSG peut s'écrire :

$$\mathbf{S} = \mathbf{D}^{\delta_2 \theta_2} \mathbf{D}^{\delta_1 \theta_1} \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (3.11)$$

ou δ_1 (δ_2) est le déphasage introduit par la cellule de cristal liquide 1 (2) entre ses axes ordinaires et extraordinaires, θ_1 (θ_2) est l'angle entre l'axe x et l'axe extraordinaire de la cellule 1 (2) et \mathbf{D} représente la matrice de Mueller d'un cristal liquide.

En posant $c_i = \cos 2\theta_i$ et $s_i = \sin 2\theta_i$, avec $i = 1, 2$, le vecteur de Stokes \mathbf{S} sortant peut s'écrire d'après l'équation 3.11 et en utilisant la matrice du déphaseur du tableau 1.3 :

$$\mathbf{S} = \begin{bmatrix} 1 \\ (c_2^2 + s_2^2 \cos \delta_2)(c_1^2 + s_1^2 \cos \delta_1) + c_1 c_2 s_1 s_2 (1 - \cos \delta_1)(1 - \cos \delta_2) - s_1 s_2 \sin \delta_1 \sin \delta_2 \\ c_2 s_2 (1 - \cos \delta_2)(c_1^2 + s_1^2 \cos \delta_1) + c_1 s_1 (1 - \cos \delta_1)(s_2^2 + c_2^2 \cos \delta_2) + s_1 c_2 \sin \delta_1 \sin \delta_2 \\ s_2 \sin \delta_2 (c_1^2 + s_1^2 \cos \delta_1) - c_2 \sin \delta_2 c_1 s_1 (1 - \cos \delta_1) + s_1 \sin \delta_1 \cos \delta_2 \end{bmatrix} \quad (3.12)$$

La modulation de la polarisation par le PSG s'effectue en faisant varier séquentiellement les retards δ_i introduits par les cristaux liquides dont les orientations θ_i restent fixes. Les colonnes de la matrice de modulation \mathbf{W} attendue sont les quatre vecteurs de Stokes \mathbf{S} obtenus en faisant varier la valeur du couple de retards (δ_1, δ_2) :

$$\mathbf{W} = \begin{bmatrix} \mathbf{S}_1 & \mathbf{S}_2 & \mathbf{S}_3 & \mathbf{S}_4 \end{bmatrix} \quad (3.13)$$

En principe, pour que le PSG soit complet, il suffit de choisir des valeurs des orientations θ_i des axes d'indice variable et les quatre valeurs du couple de retards de telle manière que la matrice \mathbf{W} ne soit pas singulière.

Optimisation de la matrice \mathbf{W}

L'optimisation du conditionnement de la matrice \mathbf{W} peut être obtenue en faisant varier 10 paramètres différents : les deux angles θ que font les axes d'indice variable des cristaux liquides avec la polarisation initiale, ainsi que les quatre couples de valeurs des déphasages $((\delta_1, \delta_2))$. Afin de déterminer la meilleure configuration, une simulation numérique de la variation du conditionnement en fonction de ces paramètres a été déjà effectuée dans notre laboratoire par Blandine Laude-Boulesteix pour le polarimètre en transmission [18]. La valeur théorique minimale pour le conditionnement est toujours égale à [35] :

$$C_{min} = \sqrt{3} \approx 1.73 \quad (3.14)$$

Ce minimum (qui correspond en fait à quatre vecteurs de Stokes situés aux sommets d'un tétraèdre régulier sur la sphère de Poincaré) est atteint, entre autres, pour une séquence temporelle appliquée aux cellules de cristaux liquides de la forme suivante :

$$(\delta_1, \delta_2) = (\Delta_1, \Delta_1), (\Delta_2, \Delta_2), (\Delta_1, \Delta_2), (\Delta_2, \Delta_1), \quad (3.15)$$

où les déphasages Δ_1 et Δ_2 sont définis par :

$$\Delta_1 = 315^\circ + p90^\circ, \quad \Delta_2 = 135^\circ + p90^\circ \quad (3.16)$$

p étant le même nombre entier dans les deux formules.

Les angles que font les axes d'indice variable des cristaux liquides avec la polarisation initiale sont eux donnés par les relations suivantes :

$$\theta_1 = \epsilon 27,4^\circ + q90^\circ, \quad \theta_2 = \epsilon 72,4^\circ + r90^\circ \quad (3.17)$$

où $\epsilon = \pm 1$, a la même valeur dans les deux formules ; q et r sont des nombres entiers.

Cette optimisation a été validée expérimentalement [18] : le conditionnement est bien minimal pour les orientations et les retards définis par les formules ci-dessus.

Analyseur d'états de polarisation

L'analyseur d'états de polarisation (PSA) est constitué des mêmes éléments optiques que le PSG mais dans l'ordre inverse, le détecteur remplaçant la source en fin de parcours. Ce choix n'est pas essentiel mais facilite la réalisation pratique de l'instrument. De même que les quatre colonnes de la matrice \mathbf{W} sont obtenues en faisant varier les retards (δ_1, δ_2) , les lignes de la matrice d'analyse \mathbf{A} sont obtenues en faisant varier les retards (δ'_1, δ'_2) des nématiques du PSA. Pour un vecteur de Stokes \mathbf{S} donné à l'entrée du PSA, l'intensité détectée en fonction des retards (δ'_1, δ'_2) s'écrit :

$$I^{(\delta'_1, \delta'_2)} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix} \mathbf{D}^{\delta'_1 \theta'_1} \mathbf{D}^{\delta'_2 \theta'_2} \mathbf{S} \quad (3.18)$$

Compte tenu de

$$(\mathbf{D}^{\delta, \theta})^T = \mathbf{D}^{-\delta, \theta} \quad (3.19)$$

il suffit de choisir les orientations et les retards des nématiques du PSA suivant :

$$\theta'_i = \theta_i \quad \text{et} \quad \Delta'_i = -\Delta_i \quad i = 1, 2 \quad (3.20)$$

pour que la matrice d'analyse soit simplement

$$\mathbf{A} = \mathbf{W}^T \quad (3.21)$$

et que son conditionnement soit le même que celui de \mathbf{W} , ce qui conduit évidemment aux mêmes valeurs optimales des orientations et des déphasages.

3.3.3 Justification du choix des nématiques

Les cellules à cristaux liquides s'avèrent bien adaptées à des applications en imagerie : elles possèdent l'acceptance angulaire caractéristique des lames d'ordre faible ou nul, elles peuvent être commandées par de faibles tensions (il s'agit typiquement de signaux carrés, de valeur moyenne nulle et d'amplitude inférieure à 20 V), ne nécessitent aucune partie mobile et sont donc faciles à mettre en œuvre. De plus, contrairement aux compensateurs tournants [24], ils permettent de modifier la polarisation sans introduire aucun mouvement parasite des images. Enfin, une fois commutés sur un état donné, ils peuvent rester dans cet état aussi longtemps que nécessaire pour l'acquisition des images, contrairement aux modulateurs photoélastiques par exemple, dont le mode de fonctionnement est fondé sur une modulation résonnante de l'indice à des fréquences typiques de plusieurs dizaines de kHz, ce qui complique nettement l'acquisition des images par des caméras CCD (typiquement il faut un éclairage stroboscopique à la fréquence de modulation).

Deux types de cellules à cristaux liquides sont disponibles commercialement, les nématiques décrits ci-dessus et les *ferroélectriques*, qui eux sont équivalents à des lames dont le retard est fixe et dont on peut basculer l'*orientation* entre deux positions séparées de 45° en commutant une tension de commande. Les nématiques ont un temps de commutation relativement long, de l'ordre de la dizaine de millisecondes, alors que les ferroélectriques commutent en moins de 0,1 milliseconde. Ceci étant, quand on change de longueur d'onde les nématiques permettent de conserver les mêmes valeurs du retard simplement en modifiant les tensions de commande : il est donc possible de maintenir un conditionnement optimal pour les matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} dans tout le spectre utilisé ce qui n'est pas possible pour les ferroélectriques. Par ailleurs, dans la pratique des temps de commutation de l'ordre de la dizaine de millisecondes ne sont pas vraiment pénalisants, compte tenu des temps d'intégration typiques de la CCD imposés par le niveau d'éclairement, de l'ordre de 70 ms dans nos expériences.

3.4 Montage expérimental

Notre polarimètre de Mueller, schématisé sur la figure 3.5, comporte :

1. Une *source blanche conventionnelle* (Olympus CLH-SC 150 W) comprenant une lampe à halogène et un faisceau de fibres optiques. Afin d'obtenir une illumination assez uniforme,

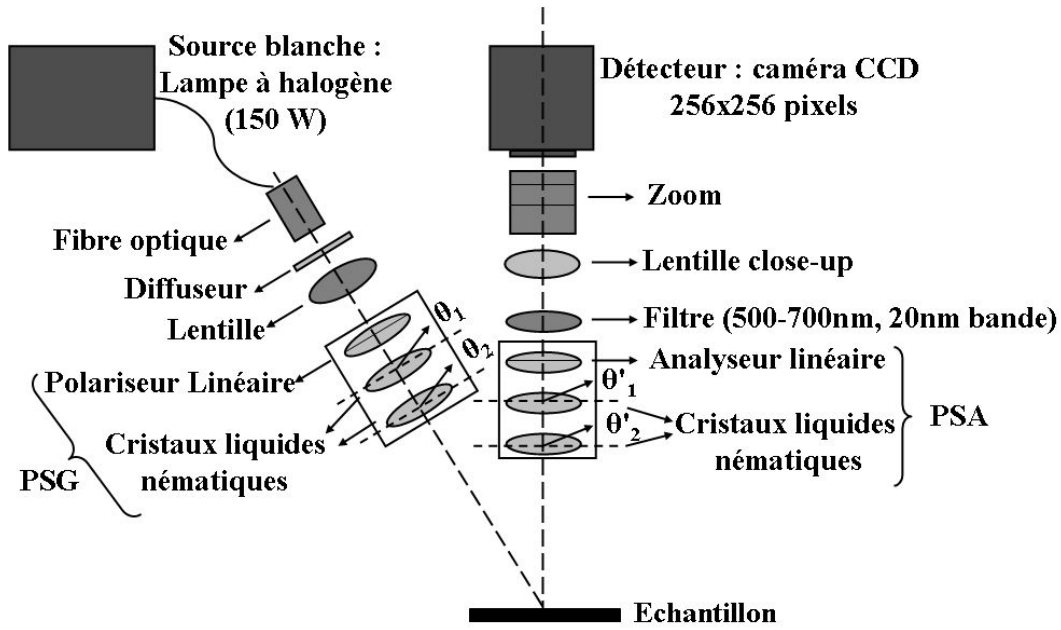


FIG. 3.5 – Imageur de Mueller à cristaux liquides en réflexion.

nous avons ajouté à la sortie de la fibre un diffuseur (Newport Light Shaping Diffuser 10°) avant le condenseur (Newport KPA046 Aspheric Condenser Lens $f = 37$ mm) qui collimate le faisceau.

2. Le *générateur d'états de polarisation*, constitué d'un polariseur linéaire dichroïque (Melles Griot 03 FPG 007) fonctionnant dans le visible et de deux cellules à nématiques du type décrit ci-dessus (LVR-300 de Meadowlark Optics).
3. L'*échantillon* à mesurer, caractérisé par sa matrice de Mueller \mathbf{M} .
4. L'*analyseur d'états de polarisation*, comportant les mêmes éléments que le PSG,
5. Une *lentille close-up* de 500 ou 350 mm de focale selon la largeur du champ imagé (Melles Griot 01LMP039/078 meniscus positive) et un zoom (12,5-75 mm) pour imagier l'échantillon sur une caméra CCD¹ rapide (Dalsa CA-D1, 256×256 pixels, 12 bits, $16\mu\text{m} \times 16\mu\text{m}$ pixels) non refroidie. Le temps d'exposition est typiquement choisi égal à 70 ms pour atteindre un bon niveau de signal sur la CCD, notamment dans le vert, qui est doublement pénalisé par le spectre de la lampe halogène et la sensibilité de la CCD.
6. Un *filtre interférentiel* centré sur une des longueurs d'onde de 500, 550, 600, 650 ou 700 nm avec une bande passante de 20 nm, positionné devant la lentille close-up. Ce domaine spectral est limité en pratique par le niveau de signal aux petites longueurs d'onde et par les polariseur et analyseur linéaires aux grandes longueurs d'onde.
7. Un *thermomètre* (Hygrowin 375-1723 de Rotronic) afin de mesurer la température ambiante et compenser l'effet de ses variations sur les mesures. Ce capteur est relié à un port série de l'ordinateur et les données mesurées, ainsi que la température, sont intégrées en temps réel dans le logiciel spécifique qui gère tout l'instrument et qui est écrit en Delphi.

Pour une séquence de mesures, nous acquérons les 16 images brutes, qui constituent la matrice $\mathbf{B} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M} \cdot \mathbf{W}$ pour chaque pixel, d'où on extrait la matrice \mathbf{M} , également pour chaque pixel. Les angles azimutaux des cellules à cristaux liquides sont définis par la monture et ne sont pas modifiables. En revanche les valeurs des retards doivent être optimisés pour chaque longueur d'onde, ce qui est réalisé par approximations successives en mesurant le conditionnement des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} fournies par la procédure décrite ci-dessous.

¹ Acronyme pour le terme anglais "Charge Coupled Device".

Par ailleurs, si le filtre interférentiel devant la caméra CCD élimine pratiquement toute la lumière parasite, en revanche le *courant d'obscurité* donne un signal significatif qui dépend fortement de la température et qui peut atteindre 150 unités sur le 4096 de la pleine échelle pour une température ambiante de 30°. Ce signal est mesuré une fois que la caméra a atteint sa température d'équilibre et est soustrait au signal mesuré pour chaque pixel.

Enfin, pour atteindre un rapport de signal sur bruit satisfaisant, nous moyennons typiquement 7 images pour chaque état de polarisation. Dans ces conditions, une matrice de Mueller complète est acquise en 11 s environ.

3.5 Etalonnage

L'étalonnage du polarimètre en réflexion est un peu plus compliqué qu'en transmission [18]. En effet, nous ne pouvons plus mesurer directement la matrice unité en laissant passer le faisceau directement, sans aucun élément optique, entre le PSG et le PSA. En réflexion, nous sommes obligés d'utiliser une plaque métallique à la place de l'échantillon sur la figure 3.5, afin de renvoyer la lumière sur le détecteur. La rugosité de cette plaque a été choisie de manière à diffuser suffisamment la lumière pour permettre de l'imager dans de bonnes conditions, tout en conservant le mieux possible la polarisation. Même si la matrice de Mueller de cette plaque, qui a été mesurée un grand nombre de fois, s'avère très proche de la matrice unité, nous ne la connaissons pas avec certitude et nous avons préféré développer une variante de la méthode d'étalonnage par valeurs propres qui permet de déterminer les matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} sans faire d'hypothèse particulière sur la matrice de Mueller de la plaque.

3.5.1 Mesures effectués avec les échantillons de référence

Tout d'abord, nous prenons la matrice \mathbf{B}_0 des mesures brutes de la plaque, dont la matrice de Mueller (inconnue) est \mathbf{M}_0

$$\mathbf{B}_0 = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{W} \quad (3.22)$$

Ensuite, nous positionnons d'autres échantillons polarimétriques (notamment des polariseurs ou des lames retard) dans le bras d'entrée du polarimètre (figure 3.6) et nous prenons leurs matrices brutes :

$$\mathbf{B}_i = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{W} \quad (3.23)$$

Ainsi nous avons $i + 1$ équations avec les inconnues \mathbf{M}_i , \mathbf{M}_0 , \mathbf{A} et \mathbf{W} . Nous définissons une nouvelle matrice \mathbf{C}_i comme le produit de la matrice \mathbf{B}_0^{-1} avec la matrice \mathbf{B}_i :

$$\mathbf{C}_i = \mathbf{B}_0^{-1} \cdot \mathbf{B}_i = \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{M}_0^{-1} \cdot \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{W} \quad (3.24)$$

Si nous considérons que l'instrument est bien linéaire (ce qui a fait l'objet d'une étude approfondie, comme on le verra plus loin), et que par conséquent les matrices \mathbf{A} et \mathbf{W} sont constantes pour toutes ces mesures des différents éléments optiques et non dépendantes du niveau de l'intensité mesurée, nous pouvons éliminer dans l'équation ci-dessus les matrices \mathbf{A} , \mathbf{M}_0 et leurs inverses, soit :

$$\mathbf{C}_i = \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{W} \quad (3.25)$$

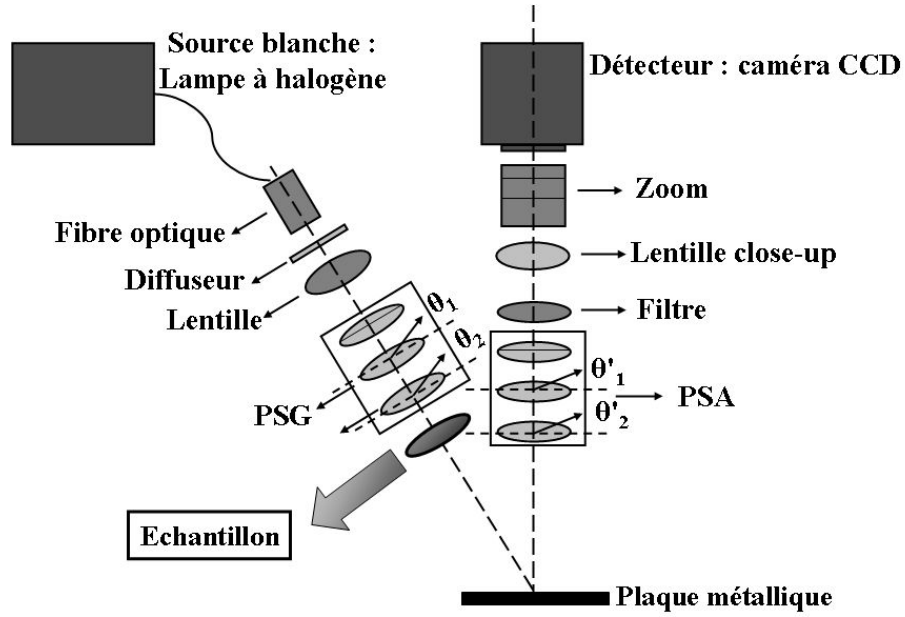


FIG. 3.6 – Montage expérimental avec l'échantillon polarimétrique (polariseur ou lame retard) placé dans le bras d'entrée du polarimètre.

Ici, il faut noter qu'en réalité, dans l'équation 3.24 il faut tenir compte des orientations des axes optiques des éléments utilisés à chaque mesure. Par conséquent, si un élément i est orienté avec un angle ϕ par rapport à l'axe $\phi = 0^1$, sa matrice de Mueller \mathbf{M}_i notée dans l'équation 3.24 doit être multipliée par la matrice de rotation $\mathbf{R}(\phi)$ et aura la forme

$$\mathbf{M}_i = \mathbf{R}(-\phi) \cdot \mathbf{M}_i(\phi = 0) \cdot \mathbf{R}(\phi) \quad (3.26)$$

En le remplaçant dans l'équation 3.25 nous obtenons

$$\mathbf{C}_i = \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{R}(-\phi) \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{R}(\phi) \cdot \mathbf{W} \quad (3.27)$$

et en tenant compte que $\mathbf{R}(-\phi) = \mathbf{R}^{-1}(\phi)$ nous obtenons

$$\mathbf{C}_i = \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{R}^{-1} \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{R} \cdot \mathbf{W} \quad (3.28)$$

Cette équation implique que la matrice \mathbf{C}_i a les mêmes valeurs propres que la matrice \mathbf{M}_i de l'échantillon.

Puisque les éléments que nous utilisons pour l'étalonnage, des polariseurs et des lames retard, consistent des éléments non dépolarisants avec une combinaison de retard et dichroïsme les matrices \mathbf{M}_i auront la forme (équation 1.58) :

$$\mathbf{M}_i = \tau \begin{bmatrix} 1 & -\cos 2\Psi & 0 & 0 \\ -\cos 2\Psi & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \sin 2\Psi \cdot \cos \Delta & \sin 2\Psi \cdot \sin \Delta \\ 0 & 0 & -\sin 2\Psi \cdot \sin \Delta & \sin 2\Psi \cdot \cos \Delta \end{bmatrix} \quad (3.29)$$

Cette matrice a quatre valeurs propres, deux réelles et deux complexes

$$\begin{aligned} \lambda_{R1} &= 2\tau \sin^2 \Psi \\ \lambda_{R2} &= 2\tau \cos^2 \Psi \\ \lambda_{C1} &= \tau \sin 2\Psi \cdot e^{i\Delta} \\ \lambda_{C2} &= \tau \sin 2\Psi \cdot e^{-i\Delta} \end{aligned} \quad (3.30)$$

¹ Contrairement au polarimètre en transmission, pour lequel on pouvait choisir arbitrairement comme $\phi = 0$ l'axe du premier élément utilisé pour la calibration, ici cette orientation est celle du plan d'incidence, ce qui garantit que c'est la même pour les PSG et PSA, d'une part, et s'impose par la géométrie même de l'instrument, d'autre part.

soit quatre équations pour les trois inconnues, τ , ψ et Δ . Le système est sur-défini et il nous reste une quatrième équation pour une vérification supplémentaire de la fiabilité de la mesure des valeurs propres. Ainsi, on peut définir un critère μ par

$$\mu = \frac{|\lambda_{C1}|^2}{\lambda_{R1} \cdot \lambda_{R2}} \quad (3.31)$$

qui doit être égal à l'unité si tout est conforme aux hypothèses faites sur la linéarité des mesures et la nature de l'échantillon.

3.5.2 Calcul de la matrice de modulation \mathbf{W}

Définissons la matrice

$$\mathbf{N}_i = \mathbf{W} \cdot \mathbf{C}_i - \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{W} \quad (3.32)$$

ou de manière plus complète

$$\mathbf{N}_i(\phi) = \mathbf{W} \cdot \mathbf{C}_i - \mathbf{R}(-\phi) \cdot \mathbf{M}_i(\tau, \psi, \Delta) \cdot \mathbf{R}(\phi) \cdot \mathbf{W} \quad (3.33)$$

laquelle d'après respectivement les équations 3.24 ou 3.25 doit être une matrice nulle. Effectivement, la matrice \mathbf{W} est déterminée, sans aucune modélisation de l'instrument, en annulant la somme des carrés des éléments de \mathbf{N} , ou, de manière équivalente, du produit $(\mathbf{N}^t \cdot \mathbf{N})$.

Si nous écrivons les grandeurs ci-dessus sous forme vectorielle nous aurons une relation linéaire entre \vec{N}_{16} et \vec{W}_{16}

$$\vec{N}_{16} = \mathbf{H}_{16,16}(\phi) \cdot \vec{W}_{16} \quad (3.34)$$

et puisque $\vec{N}_{16} = \vec{0}$ nous aurons

$$\vec{N}_{16}^t \cdot \vec{N}_{16} = 0 \quad (3.35)$$

et d'après l'équation 3.34

$$\vec{W}_{16}^t \cdot \mathbf{H}_{16,16}^t(\phi) \cdot \mathbf{H}_{16,16} \cdot \vec{W}_{16} = 0 \quad (3.36)$$

et ceci pour chacune des mesures effectuées au cours de la procédure d'étalonnage, chaque élément (polariseur, lame retard) définissant sa propre matrice $\mathbf{H}_{16,16}$.

Ensuite, nous définissons une matrice \mathbf{K} comme la somme des produits des matrices \mathbf{H} avec leurs transposées pour tous les éléments utilisés pour l'étalonnage, soit trois dans notre cas.

$$\mathbf{K} = \sum_{i=1}^n \mathbf{H}_{16,16}^t(i) \cdot \mathbf{H}_{16,16}(i) \quad (3.37)$$

et de cette manière nous pouvons ré-écrire l'équation 3.36 comme

$$\vec{W}_{16}^t \cdot \mathbf{K}(\phi) \cdot \vec{W}_{16} = 0 \quad (3.38)$$

L'intérêt de cette syntaxe est qu'elle nous permet d'introduire dans la matrice \mathbf{K} autant de composants que nous le souhaitons sans modifier la forme du système d'équations à résoudre. La matrice \mathbf{K} étant réelle symétrique, elle est facilement diagonalisable. \vec{W} n'est autre que le vecteur propre associé à une valeur propre nulle.

En réalité, nous ne connaissons pas exactement les orientations ϕ_i des divers éléments mesurés au cours de la procédure. Si la matrice \mathbf{K} est calculée avec des valeurs fausses de ces orientations, alors l'équation 3.38 n'a pas de solution et les valeurs propres de \mathbf{K} sont toutes strictement positives. On fait donc varier les orientations ϕ_i utilisées pour le calcul de \mathbf{K} , de manière à minimiser la plus petite de ses valeurs propres, et déterminer ainsi en même temps ces orientations et la matrice \mathbf{W} . Il s'avère en pratique qu'après cette minimisation une de ces valeurs propres est effectivement beaucoup plus petite (de 100 à 1000 fois) que toutes les autres. Le spectre de la matrice \mathbf{K} fournit d'ailleurs le critère essentiel pour le choix de la nature et de l'orientation des échantillons de référence, comme on le précise ci-après.

3.5.3 Calcul de la matrice de calibration \mathbf{A}

Pour calculer la matrice de calibration \mathbf{A} , nous positionnons les échantillons de référence du côté du PSA, dans le bras de sortie (figure 3.7).

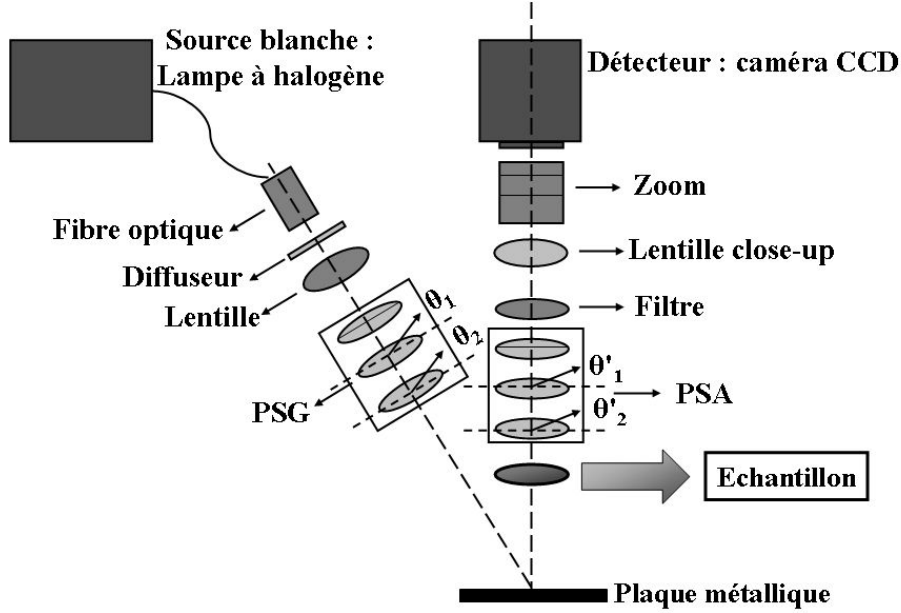


FIG. 3.7 – Montage expérimental avec l'échantillon polarimétrique (polariseur ou lame retard) placé dans le bras de sortie du polarimètre.

Par conséquent, l'équation 3.23 s'écrit :

$$\mathbf{B}_i = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{W} \quad (3.39)$$

Nous effectuons toujours une mesure qu'avec la plaque, alors, l'équation 3.22 est toujours valable, mais cette fois-ci nous formons le produit :

$$\mathbf{B}_i \cdot \mathbf{B}_0^{-1} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{W} \cdot \mathbf{W}^{-1} \cdot \mathbf{M}_0^{-1} \cdot \mathbf{A}^{-1} \quad (3.40)$$

En éliminant les matrices \mathbf{M}_0 , \mathbf{W} et leurs inverses, nous obtenons une équation où seulement l'une de deux matrices de calibration apparaît :

$$\mathbf{B}_i \cdot \mathbf{B}_0^{-1} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_i \cdot \mathbf{A}^{-1} \quad (3.41)$$

Ensuite, nous appliquons la même procédure que pour la détermination de la matrice \mathbf{W} déjà décrite.

3.5.4 Choix des éléments de référence

Nous rappelons quelques propriétés importantes pour le choix des éléments de référence :

- Le choix des échantillons de référence ne dépend pas des matrices \mathbf{A} et \mathbf{W} .
- La matrice \mathbf{K} (formule 3.37) doit avoir seulement une valeur propre nulle.
- Il est nécessaire que les valeurs propres non nulles de \mathbf{K} soient équilibrées c'est-à-dire les plus différentes de zéro possible. En d'autres mots, si on classe les valeurs propres de \mathbf{K} par ordre décroissant $\lambda_1 > \dots > \lambda_{15} > \lambda_{16} = 0$, le rapport λ_{15}/λ_1 doit être le plus grand possible.

Nous nous sommes limités aux éléments optiques de type "lame retard"/"dichroïque linéaire" les plus faciles à se procurer, c'est-à-dire un polariseur et une lame retard. La condition sur \mathbf{K} , d'avoir une seule valeur propre nulle, est vérifiée en prenant trois mesures avec des échantillons de référence (en plus de la mesure de \mathbf{B}_0 sans échantillon) qui sont :

- Un polariseur orienté à deux angles différents θ_{P1} et θ_{P2} .
- Une lame retard orientée à θ_D et déphasant d'un angle Δ .

Le rapport λ_{15}/λ_1 a été optimisé en considérant l'angle θ_{P1} égale à zéro sans aucune perte de généralité, et en faisant varier les trois paramètres θ_{P2} , θ_D et Δ . Un maximum de ce rapport égal à 0,1015 a été obtenu pour les valeurs suivantes [18] :

$$\begin{aligned}\theta_{P1} &= 0^\circ \\ \theta_{P2} &= 90^\circ \\ \Delta &= 109^\circ \\ \theta_D &= 30,5^\circ\end{aligned}\tag{3.42}$$

La valeur du déphasage Δ introduit par la lame retard n'est pas critique. En effet, le maximum atteint pour R à $\Delta = 109^\circ$ est large. Par contre, les orientations de la lame retard ainsi que celle du second polariseur doivent rester proches de leurs valeurs optimales.

3.6 Optimisation expérimentale du polarimètre

3.6.1 Minimisation du conditionnement des matrices \mathbf{A} et \mathbf{W}

Les tensions de commande des nématiques ont été optimisées par approximations successives, en réalisant à chaque étape un étalonnage complet soit du PSG, soit du PSA, et en cherchant à minimiser le conditionnement des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} ainsi déterminées. Nous réalisons cette optimisation séparément pour chaque cristal liquide utilisé sur notre polarimètre, quatre au total. Nous les avons numérotés de 1 à 4, selon l'ordre que la lumière les traverse : 1-2 pour le PSG et 3-4 pour le PSA.

Il faut noter qu'à chaque cristal liquide nous appliquons deux valeurs de tension pendant le cycle d'acquisition, une tension élevée (V_{max}) et une tension faible (V_{min}) alternativement (afin d'obtenir les retards δ_1 et δ_2), comme présentées sur la figure 3.8, afin de créer les seize états de polarisation dont nous avons besoin pour notre mesure.

L'optimisation soit du PSG, soit du PSA implique deux cristaux liquides et donc quatre tensions de commande (V_{min} et V_{max} pour chaque cristal liquide). A chaque itération nous commençons par changer les trois autres tensions dont dépend également le conditionnement, afin d'optimiser celle que nous étudions. Petit à petit, en fixant la valeur des trois autres, nous obtenons la valeur optimale pour la tension à optimiser.

Ici, nous présentons les résultats de cette procédure pour la longueur d'onde de 700 nm sur la figure 3.9. Dans le tableau 3.1 nous résumons uniquement leurs valeurs pour les autres longueurs d'onde.

Les valeurs optimales de la tension appliquée s'avèrent finalement légèrement différentes d'un cristal liquide à l'autre, ce qui justifie la procédure mise en œuvre : des tensions fixées uniquement à partir des données du fabricant donnent des résultats bien moins bons. Comme on pouvait s'y attendre, la tension optimale diminue quand la longueur d'onde augmente : selon l'équation 3.10, quand nous augmentons la longueur d'onde λ , il faut également augmenter la biréfringence effective Δn , afin de garder constant le retard δ souhaité, ce qui implique de diminuer la tension, comme le montrent les courbes typiques des nématiques (figure 3.3

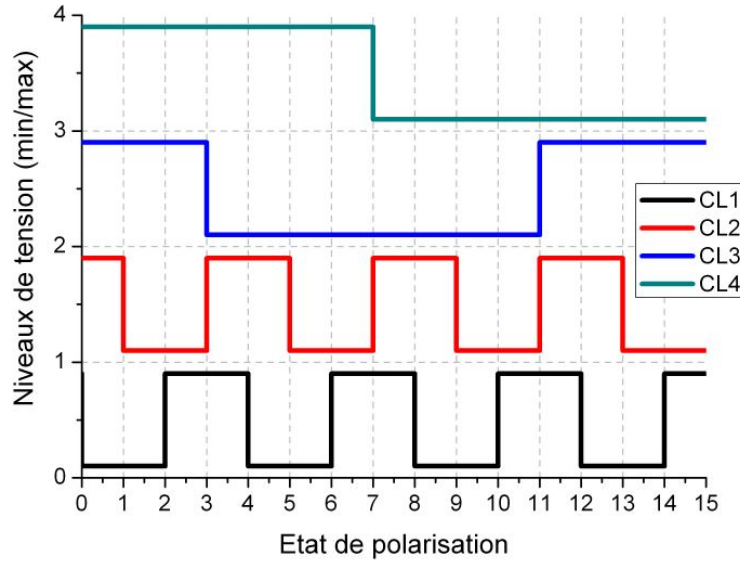


FIG. 3.8 – Niveaux de tension de commande des quatre cristaux liquides pendant un cycle d’acquisition. Les quatre cristaux liquides sont numérotés suivant le chemin optique. Les deux niveaux (min et max) sont indiqués comme 0-1 pour le premier cristal liquide, 1-2 pour le deuxième, 2-3 pour le troisième et 3-4 pour le quatrième.

| | LC1 | | LC2 | | LC3 | | LC4 | |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| λ (nm) | V_{min} | V_{max} | V_{min} | V_{max} | V_{min} | V_{max} | V_{min} | V_{max} |
| 500 | 6,1 | 18 | 5,5 | 17 | 5,6 | 17,8 | 7,5 | 20 |
| 550 | 5,5 | 16 | 5,2 | 14 | 5,3 | 17 | 6,9 | 19 |
| 600 | 5,1 | 15 | 5,1 | 16 | 4,9 | 17 | 6,3 | 19 |
| 650 | 4,8 | 13 | 4,7 | 15 | 4,7 | 16 | 6 | 15 |
| 700 | 4,5 | 13 | 4,5 | 16 | 4,5 | 17 | 5,5 | 17 |

TAB. 3.1 – Valeurs optimales (en Volts) des tensions appliquées aux quatre cristaux liquides pour les cinq longueurs d’onde : 500, 550, 600, 650 et 700 nm.

3.6.2 Prise en compte des variations spatiales des matrices \mathbf{W} et \mathbf{A}

Afin que l’étalonnage ne dure pas trop longtemps (typiquement quelques minutes), les matrices de calibration \mathbf{W} et \mathbf{A} sont calculées uniquement sur 225 pixels (au lieu de 256×256 pixels de la caméra) de coordonnées (X_i, Y_i) régulièrement espacés sur la surface du détecteur avec [18] :

$$\begin{aligned} X_i &= 16i \\ Y_i &= 16j \end{aligned}, \quad i, j = 1 - 15 \quad (3.43)$$

Les 225 pixels sont indiqués sur la figure 3.10. Les 225 matrices \mathbf{W} et \mathbf{A} sont ensuite inversées, et les matrices \mathbf{W}^{-1} et \mathbf{A}^{-1} qui seront effectivement utilisées au cours des mesures sont calculées pour tous les pixels par une méthode d’interpolation en convoluant les 225 matrices directement déterminées avec une gaussienne de largeur (20 pixels) comparable à l’espacement entre points d’étalonnage voisins.

Nous nous sommes aperçus que de cette façon, les matrices \mathbf{W}^{-1} et \mathbf{A}^{-1} qui sont utilisées pour le calcul de la matrice de Mueller \mathbf{M} de l’échantillon sont assez inhomogènes (figure 3.11). Cette inhomogénéité est certainement due au bruit affectant les mesures d’étalonnage

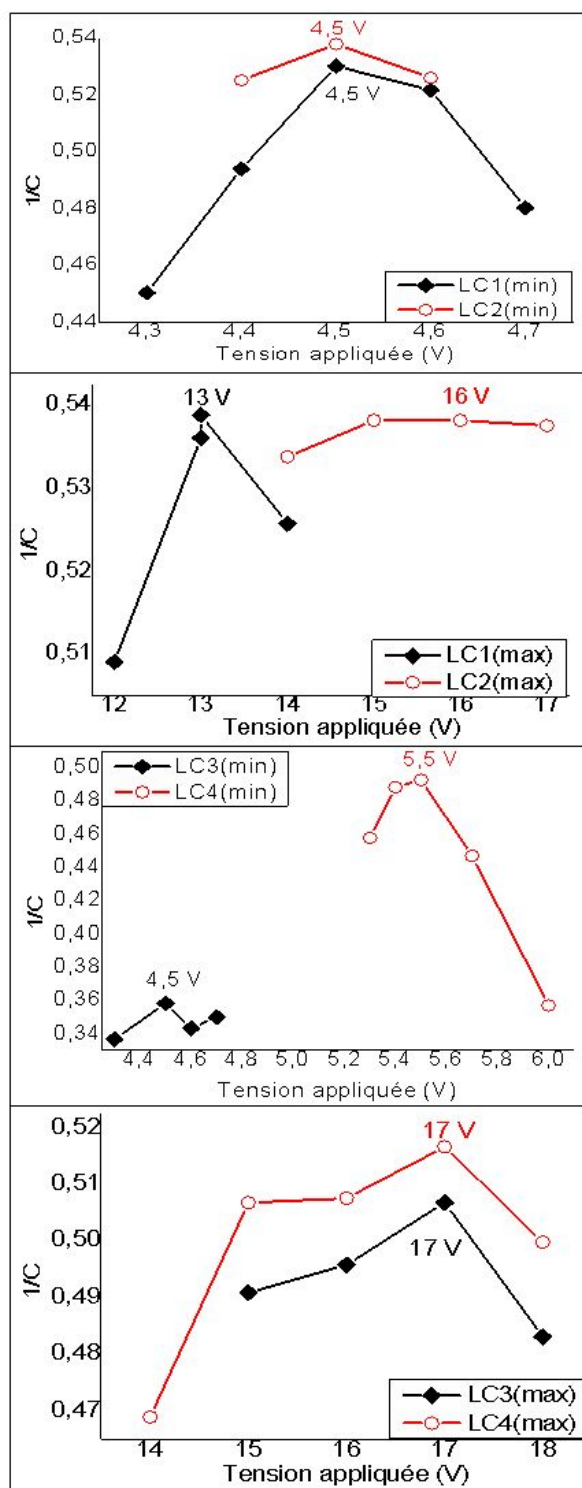


FIG. 3.9 – Optimisation des tensions appliquées aux quatre cristaux liquides pour la longueur d'onde de 700 nm. Les valeurs de tension qui minimisent le conditionnement (donc qui maximisent son inverse, qui est porté ici en ordonnée) et qui sont utilisés ensuite pour les acquisitions à 700 nm sont notées sur les graphes.

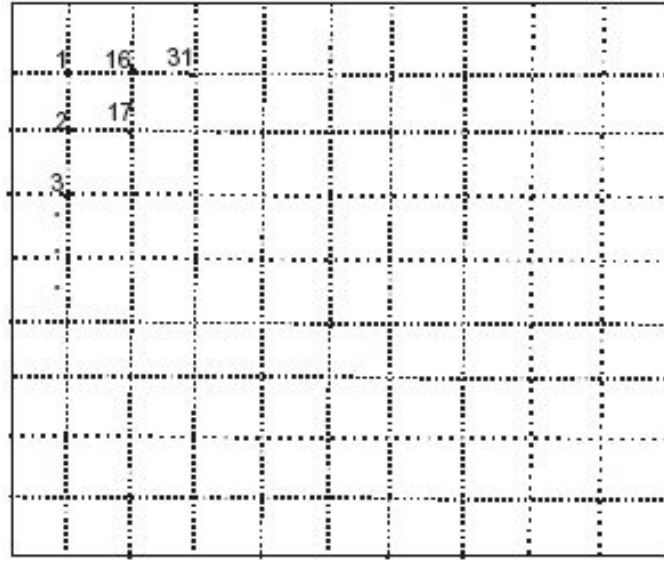


FIG. 3.10 – Répartition de points d'étalonnage numérotés de 1 à 225. Ceux-ci se trouvent à l'intersection des traits pointillés. La numérotation augmente par pas de 1 au sein d'une même colonne, puis reprend au début de la ligne suivante. Pour des raisons évidentes de clarté, les 225 points d'étalonnage n'ont pas tous été représentés [18].

utilisées pour déterminer \mathbf{A} et \mathbf{W} sur chacun des 225 pixels. Afin de réduire ce bruit nous avons décidé de remplacer pour chaque point d'étalonnage la moyenne d'une zone de $N \times N$ pixels entourant ce point, où N est le nombre de pixels sur une dimension, paramétré par l'utilisateur. Nous présentons les matrices \mathbf{W}^{-1} et \mathbf{A}^{-1} respectivement pour une moyenne sur 3×3 et 10×10 pixels (figures 3.12 et 3.13). Nous constatons que les deux matrices présentent moins de variations spatiales quand nous prenons la moyenne sur 3×3 pixels et encore moins, quand on moyenne sur 10×10 pixels.

Nous avons répété la calibration dans les mêmes conditions, en prenant la moyenne de nouveau sur respectivement 1×1 , 3×3 et 10×10 pixels. Bien que les matrices non moyennées soient assez différentes à chaque mesure, les matrices moyennées sur 3×3 ou 10×10 pixels sont bien reproductibles. Puisque une zone de 3×3 pixels reste de taille inférieure aux longueurs caractéristiques de variation des matrices \mathbf{A} et \mathbf{W} , nous décidons d'utiliser par la suite la moyenne sur 10×10 pixels, qui est une zone suffisamment grande pour améliorer le rapport signal à bruit, tout en respectant l'espace de 15 pixels entre points successifs.

3.6.3 Correction des fluctuations de l'intensité de la source

Parmi les contributions au bruit aléatoire sur les mesures, celles liées au fonctionnement de la caméra elle-même (bruit de grenaille, bruit de lecture et courant d'obscurité) ne peuvent pas être éliminées ou réduites autrement qu'en moyennant un nombre suffisant d'images, ou en changeant de caméra. En revanche, les fluctuations d'intensité de la source, si elles s'avèrent importantes, peuvent justifier la mise en place d'un système de stabilisation de l'intensité lumineuse ou de mesure de cette intensité en temps réel, pour ensuite normaliser le signal de la caméra. De fait, l'évolution temporelle de ce signal enregistré dans des conditions statiques (voir figure 3.14) est caractérisée par une série de paliers, d'une durée typique de quelques dizaines à une centaine de secondes, qui ne correspondent pas du tout au bruit blanc typique lié aux contributions habituelles évoquées plus haut.

La source que nous utilisons n'est autre que le système (OLYMPUS CLH-SC) d'éclairage du colposcope décrit au chapitre 5. Il est constitué d'un faisceau de fibres éclairé par une lampe

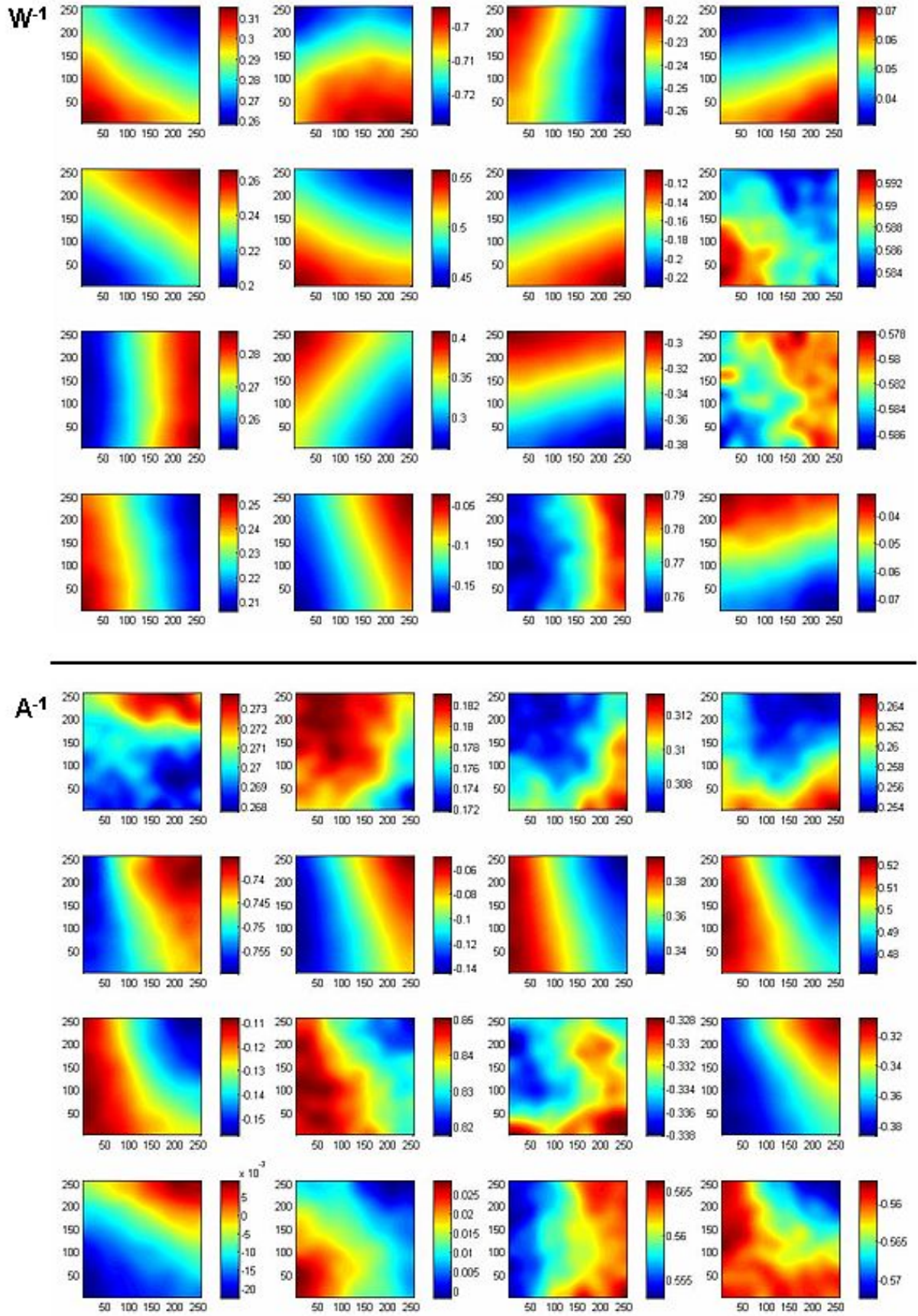


FIG. 3.11 – Matrices W^{-1} (en haut) et A^{-1} (en bas) mesurées à 700 nm. L'échelle en couleur est définie pour chaque élément séparément, de manière à correspondre sa valeur minimum au bleu et sa valeur maximale au rouge, pour une meilleure visualisation des détails.

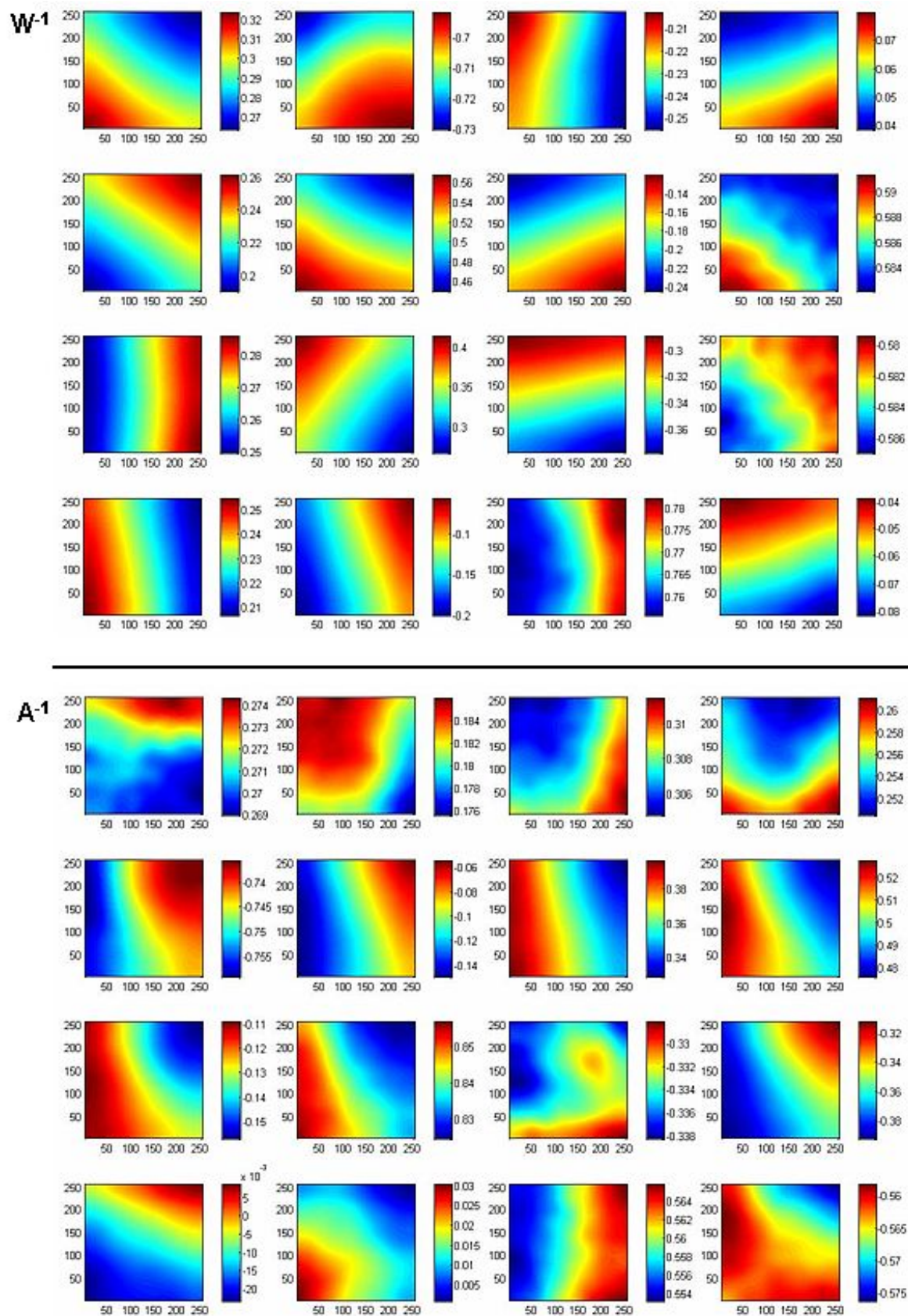


FIG. 3.12 – Analogue à la figure 3.11, mais pour une moyenne sur 3×3 pixels autour de chaque point d'étalonnage.

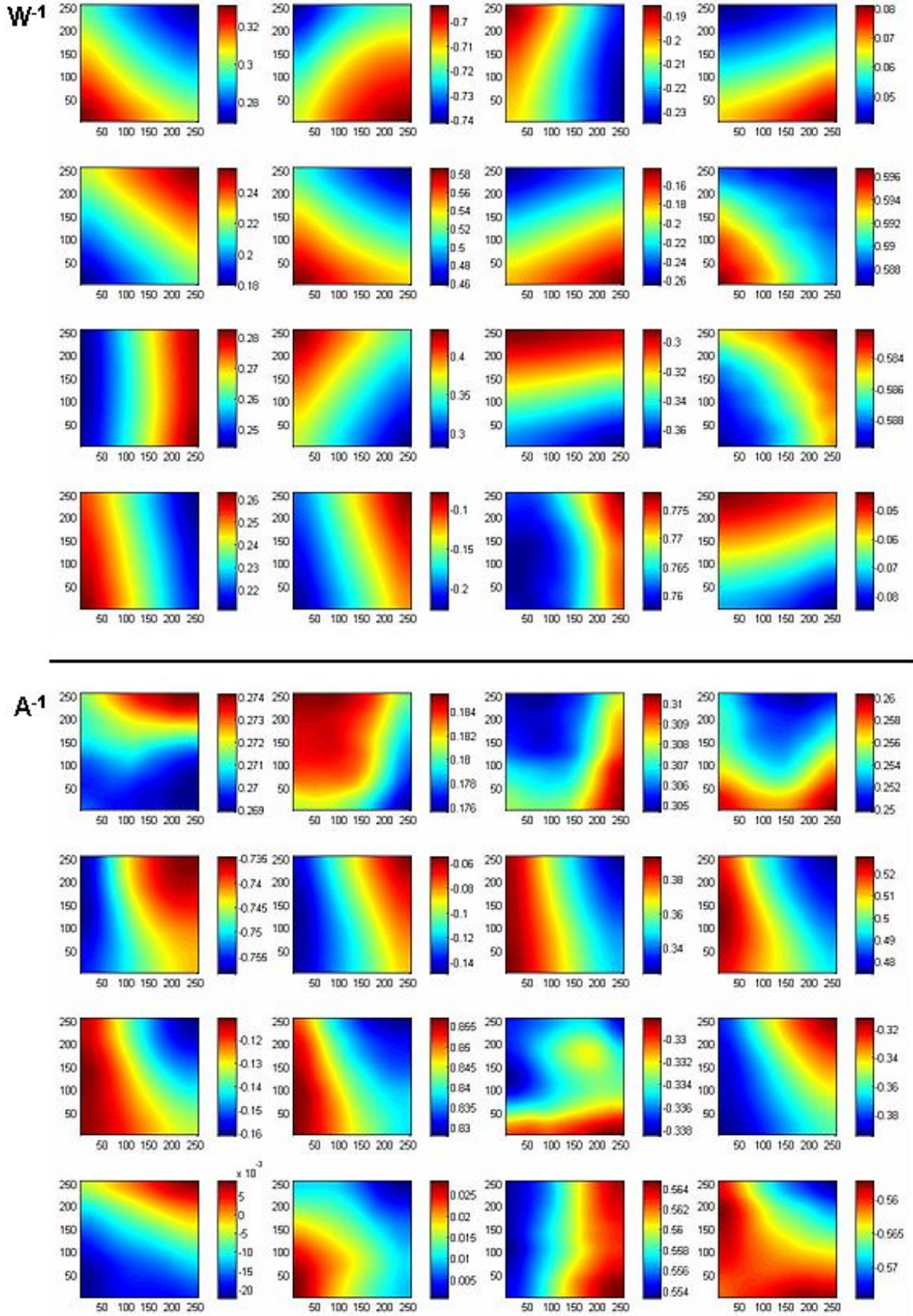


FIG. 3.13 – Analogie à la figure 3.11, mais pour une moyenne sur 10×10 pixels autour de chaque point d'étalonnage.

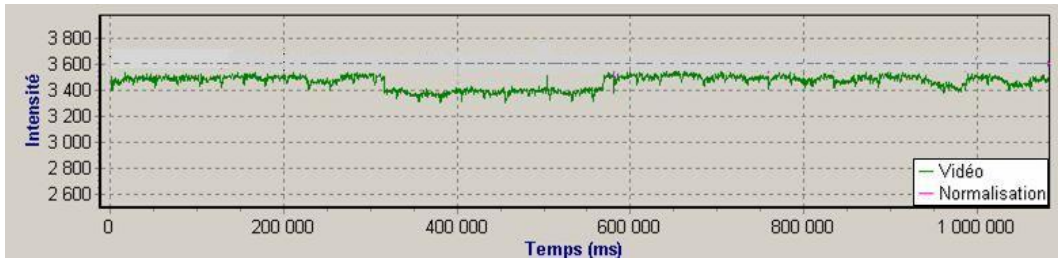


FIG. 3.14 – Evolution temporelle du signal vidéo absolu sur le pixel central pour une plaque métallique éclairée sous conditions statiques.

halogène de 150 W alimentée en courant alternatif 50 Hz. L'intensité de cette source, mesurée avec une photodiode silicium indépendante de la CCD, présente effectivement une modulation sinusoïdale régulière à 100 Hz, de l'ordre de 3 % en valeur relative, et qui est facile à éliminer en prenant pour temps d'intégration de la CCD des multiples entiers de 10 ms. Mais, en plus de cette modulation, la source présente effectivement des fluctuations sur des temps plus longs, qui ressemblent à celles observées sur la CCD.

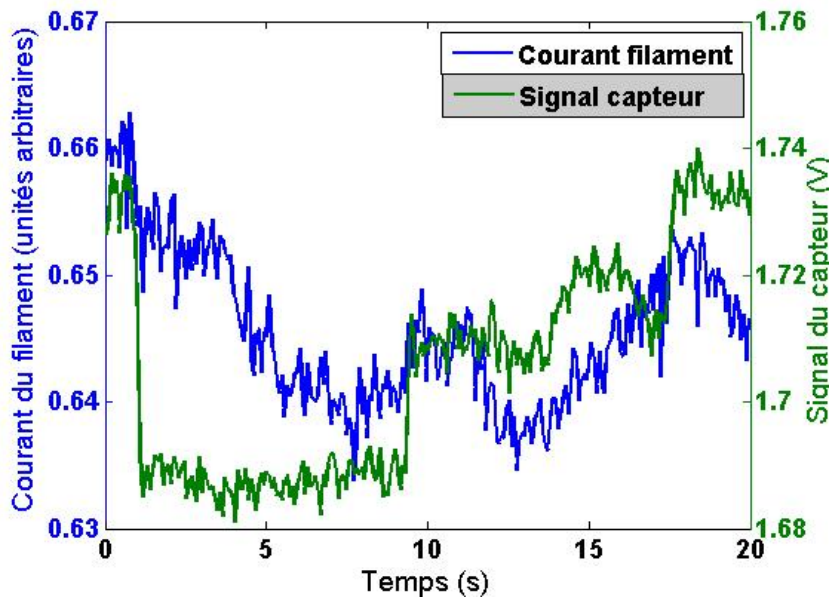


FIG. 3.15 – Comparaison des fluctuations du courant d'alimentation de la lampe et de l'intensité lumineuse mesurée par un capteur à photodiode.

Afin de voir si ces fluctuations pouvaient être attribuées à un défaut de stabilité du courant d'alimentation de la lampe, nous avons mesuré simultanément l'évolution temporelle de la valeur RMS de ce courant (par la tension sur une petite résistance série) et celle de l'intensité lumineuse de la source (mesurée par la photodiode). La figure 3.15 présente cette évolution sur un intervalle de temps de 20 s, défini par la mémoire de l'oscilloscope utilisé. Cette durée, bien qu'un peu courte pour calculer précisément les variances et covariances de ces signaux, est cependant largement suffisante pour montrer que les deux signaux ne sont pas réellement corrélés, et qu'une simple stabilisation du courant d'alimentation de la lampe ne peut éliminer ses fluctuations d'intensité. Il faut donc mesurer celles-ci en temps réel, et utiliser ces mesures soit pour mettre en place une contre-réaction sur l'alimentation de la lampe, soit corriger le signal de la CCD. C'est cette dernière méthode qui nous a paru la plus simple à mettre en oeuvre dans notre cas. Dans un premier temps, nous décrivons la mise en place de cette mesure en temps réel, puis nous montrons la réduction du bruit que cette méthode a permis d'obtenir.

Dispositif de mesure de l'intensité de la source en temps réel

Nous avons utilisé pour cette mesure un capteur constitué d'une photodiode silicium (Cen-tronic OSD15-5T, surface active 15 mm^2 , sensibilité de $0,21 \text{ A/W}$, courant d'obscurité 5 nA), connectée au système d'acquisition comportant un convertisseur de analogique-numérique à gain programmable (résolution 10 bit), une mémoire de 32 K-échantillons et une interface USB.

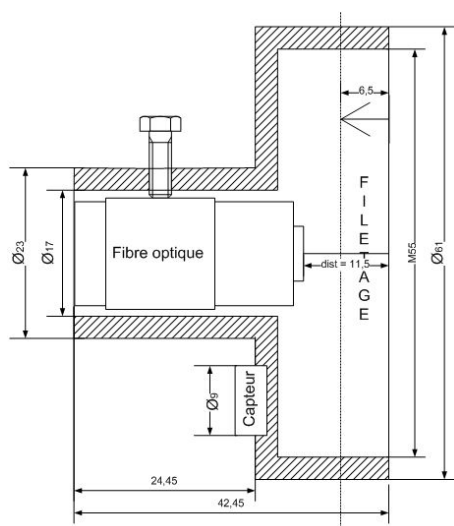


FIG. 3.16 – Dessin mécanique du support de la fibre optique sur lequel le capteur est ajusté.

Ce capteur est placé à la sortie de la fibre optique, sur le support du condenseur (figure 3.16), avec une densité optique adéquate pour éviter la saturation quand la source à halogène fonctionne dans toute sa gamme d'intensité. La gestion de ce capteur a été programmée sous Delphi et intégrée au logiciel pilotant l'ensemble du polarimètre.

Le gain du convertisseur est choisi automatiquement entre trois valeurs (2, 4 ou 10 mV/bit) en fonction du niveau de signal (voir figure 3.17). Par ailleurs, pour permettre une correction efficace des fluctuations d'intensité, le signal du capteur doit être acquis de manière synchrone avec celui de la caméra (figure 3.18). Puisque le temps d'intégration de la caméra est 70 ms et la période d'échantillonnage du capteur $2000 \mu\text{s}$, nous calculons la valeur moyenne des 35 dernières acquisitions du capteur au moment de l'arrêt de l'acquisition vidéo¹.

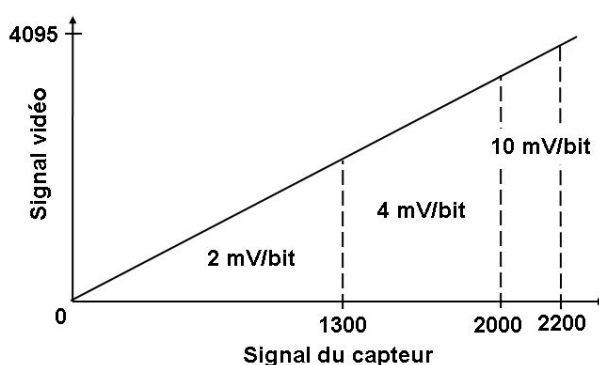


FIG. 3.17 – Programmation du gain du capteur selon le niveau de l'intensité.

¹Il faut noter que nous ne connaissons pas avec certitude le début de l'acquisition vidéo parce que cela ne correspond pas au moment de la demande d'exécution de la commande. Le processeur attend la fin de l'acquisition en cours avant de démarrer l'acquisition demandée. Par contre, nous connaissons avec précision la fin de l'acquisition, que nous utilisons donc pour synchroniser le capteur.

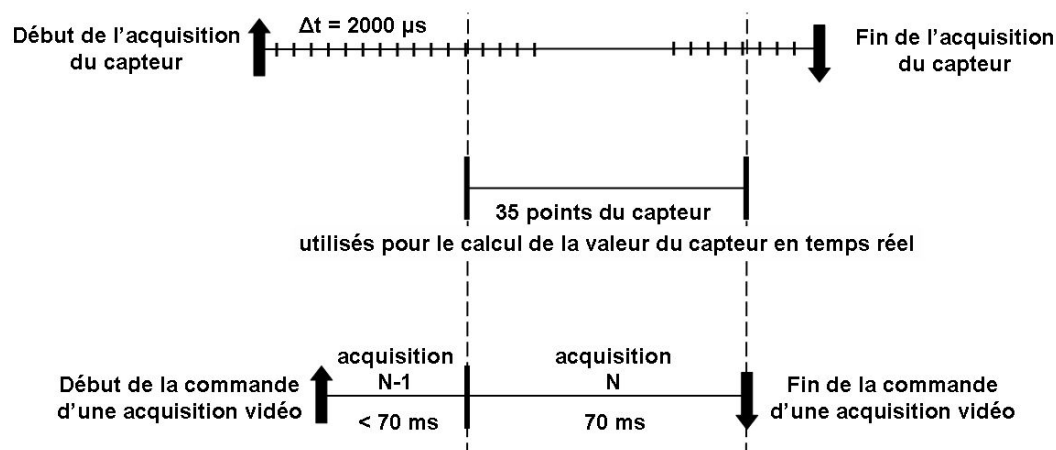


FIG. 3.18 – Synchronisation de l'acquisition du signal du capteur avec l'acquisition de la caméra CCD.

Une fois le capteur installé, nous avons voulu vérifier sa linéarité. Pour cela, nous avons comparé le signal du capteur avec celui d'une photodiode positionnée à 40 cm de la sortie de la fibre, avec une densité optique permettant de limiter son signal à 8V pour être sûrs de sa linéarité. Le montage utilisé est présenté sur la figure 3.19.

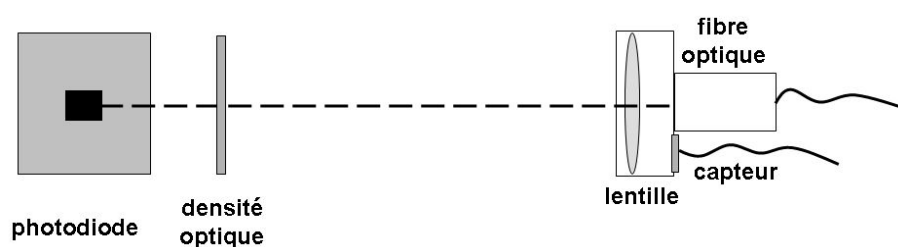


FIG. 3.19 – Montage utilisé pour la correction de la linéarité du capteur.

Les courbes obtenues pour les trois valeurs du gain sont reportées sur la figure 3.20 : dans la zone de recouvrement entre gains différents, le résultat est pratiquement indépendant de la valeur de celui-ci, comme attendu. En revanche, la concavité de la courbe montre un net effet de saturation du capteur par rapport à la photodiode.

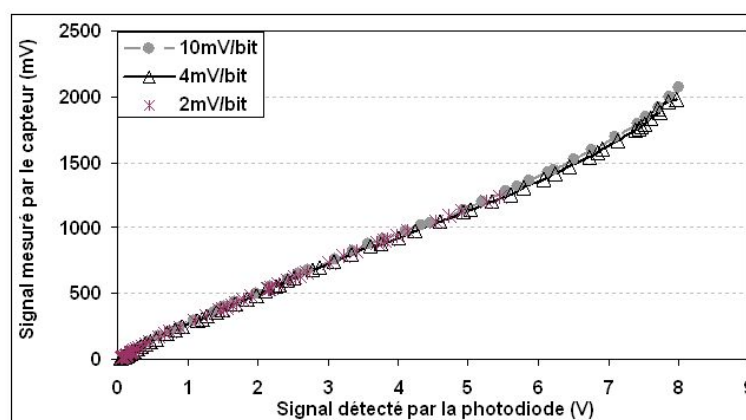


FIG. 3.20 – Signal du capteur par rapport au signal de la photodiode pour les différents gains du capteur.

Pour compenser cette nonlinéarité, nous avons choisi d'ajuster un polynôme de degré 4 à la courbe *réciproque* de celle de la figure 3.20, à savoir le signal de la photodiode en fonction de

celui du capteur : en effet, si on suppose la photodiode linéaire, ce polynôme permet de calculer directement une quantité proportionnelle à l'intensité lumineuse directement à partir du signal du capteur. La figure 3.21 montre cet ajustement sur la courbe prise à 4 mV/bit, qui couvre pratiquement la gamme entière de la source.

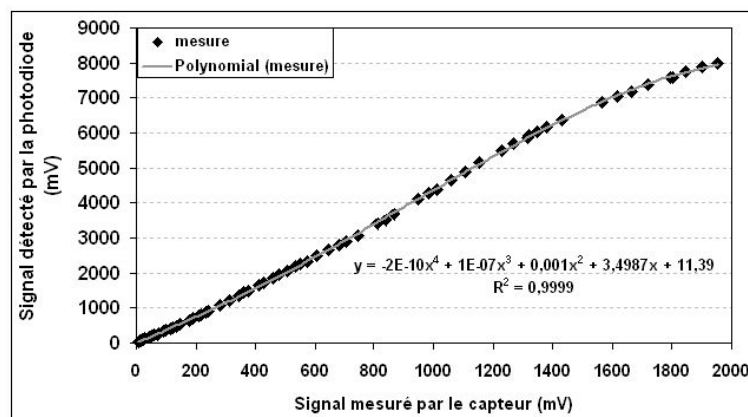


FIG. 3.21 – Ajustement du signal du capteur par rapport au signal de la photodiode pour le gain de 4 mV/bit.

Une fois l'équation insérée dans le code, nous répétons la mesure avec la photodiode dans la même position et nous obtenons la droite attendue (figure 3.22).

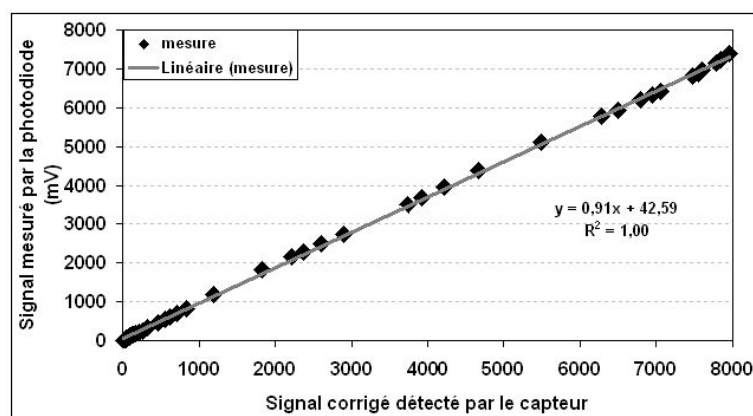


FIG. 3.22 – Signal corrigé du capteur par rapport au signal de la photodiode.

La linéarité de la correction est ensuite validée en répétant cette mesure avec la photodiode placée soit plus près (à 25 cm), soit plus loin (à 50 cm) afin de faire varier l'intensité qu'elle détecte pour un signal donné du capteur. Les figures 3.23 et 3.24 montrent que la relation entre les deux signaux reste linéaire quand on fait varier leur rapport d'un facteur deux, ce qui exclut qu'une nonlinéarité importante de la photodiode ait pu être masquée par la procédure d'ajustement qui vient d'être décrite.

Résultat : réduction du bruit sur le signal vidéo

La mesure en temps réel de l'intensité est utilisée pour corriger les fluctuations de la source de la manière suivante. Après mise en route de l'expérience ou après toute modification volontaire de l'intensité de la source (pour s'adapter à la réflectivité d'un nouvel échantillon par exemple) on masque le faisceau d'éclairage juste après le condenseur, de manière que le capteur mesure l'intensité de la source et la caméra son offset dû au courant d'obscurité (et éventuellement

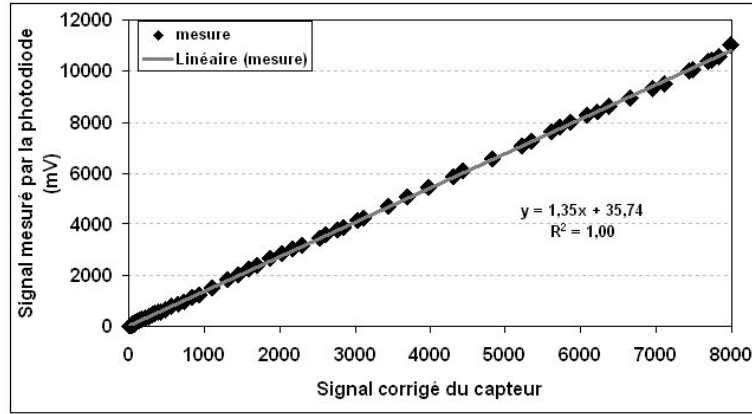


FIG. 3.23 – Signal corrigé du capteur par rapport au signal de la photodiode en position rapprochée.

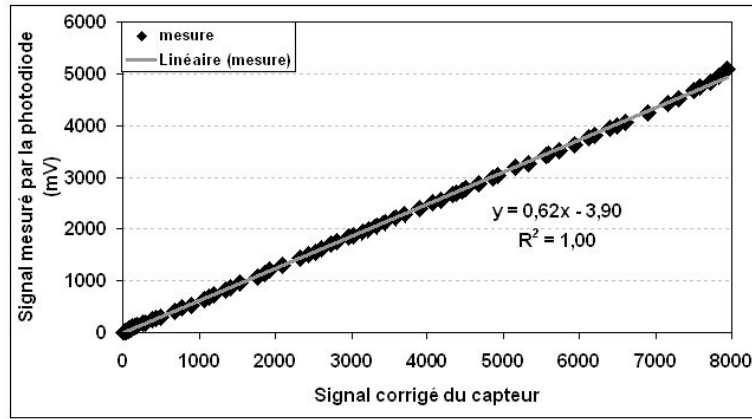


FIG. 3.24 – Signal corrigé du capteur par rapport au signal de la photodiode en position éloignée.

la lumière parasite résiduelle). Ces deux quantités sont moyennées sur un temps de l'ordre de quelques secondes, et les résultats (l'offset S_0 et le signal capteur moyen I_m) sont mémorisés.

Ensuite, pour toute mesure effectuée dans les mêmes conditions d'éclairement, l'offset est d'abord retranché du signal brut S , puis le signal résultant $s = S - S_0$ est transformé en un signal s' défini par

$$s' = \frac{s}{I} \times I_m \quad (3.44)$$

où I est l'intensité instantanée mesurée par le capteur. Cette procédure très simple nécessite certes la mesure de l'offset à chaque nouveau réglage de l'intensité de la source, mais elle présente le très gros avantage de donner un signal vidéo corrigé voisin du signal brut de la CCD, ce qui va s'avérer très pratique pour la correction de la nonlinéarité de celle-ci.

Afin de tester la compensation des fluctuations d'intensité de la source dans les meilleures conditions, nous avons choisi de minimiser les autres sources de bruit sur le signal vidéo en moyennant le signal sur 10×10 pixels. L'efficacité de cette correction est déjà nettement visible sur la figure 3.25.

Pour caractériser de manière plus quantitative cette réduction du bruit, nous évaluons la variance de chaque signal par l'estimateur classique

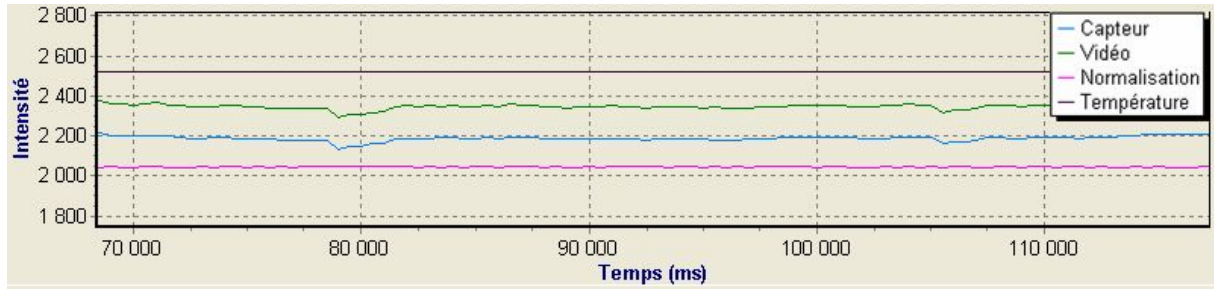


FIG. 3.25 – Signal en intensité du capteur (courbe bleue), de la caméra (courbe verte), et caméra corrigée (courbe rose). Les signaux sont moyennés sur 100 pixels. La courbe noire montre la stabilité de la température ambiante .

$$\sigma = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N} \quad (3.45)$$

dans une fenêtre glissante de 10 s. Un résultat typique, sur une durée de 70 s, est présenté sur la figure 3.26.

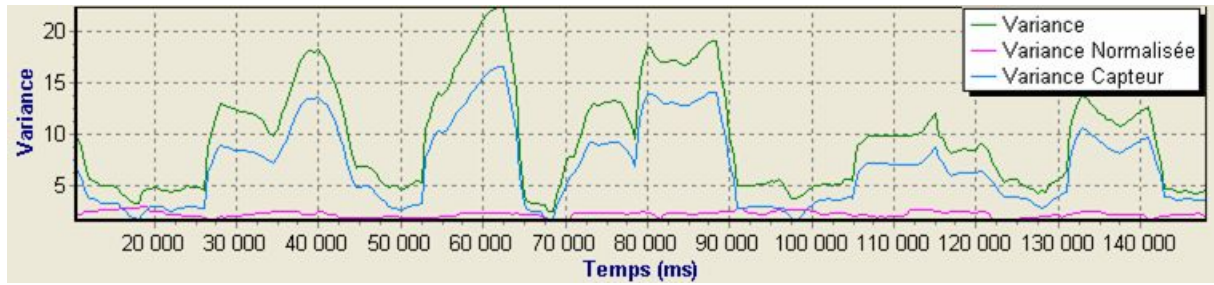


FIG. 3.26 – Variance du capteur (courbe bleue), de la caméra (courbe verte), et du signal normalisé (courbe rose), pour des signaux moyennés sur 100 pixels. La variance du signal corrigé est multipliée par un facteur 1,5, pour qu'elle soit visible sur le graphe.

Les variances du signal de la caméra et du capteur ont la même évolution. La variance de la caméra plus précisément, augmente brusquement jusqu'à des valeurs de l'ordre de 20 (sur une dynamique de mesure de la CCD de 4096) quand l'intensité passe d'un palier à un autre, et ne redescend (si la source reste stable) qu'au bout de 10 secondes. En revanche, la variance du signal corrigé reste en permanence à des valeurs bien inférieures, de l'ordre de 1. Ce résultat montre bien l'efficacité de la correction.

Bien entendu, si on ne prend plus la moyenne sur 100 pixels voisins, mais qu'on regarde le signal sur chaque pixel comme c'est le cas lors de vraies mesures, on réintroduit les bruits autres que les fluctuations d'intensité. Cette augmentation du bruit est clairement visible sur la figure 3.27, et sur la variance du signal corrigé (figure 3.28), qui augmente d'un ordre de grandeur, comme attendu. Ceci étant, les signaux du capteur et de la CCD sont toujours corrélés. La variance du signal de la caméra suit l'évolution de la variance du signal du capteur. Elle est toujours plus élevée que la variance du signal corrigé et elle devient égale à celle-ci seulement pendant les courtes périodes où la variance du capteur reste stable et très faible.

Une fois le calcul de normalisation intégré dans le code d'acquisition et mesure du polarimètre, nous calculons la valeur actuelle de l'intensité du capteur en prenant $7 \times 35 = 245$ points, ce qui correspond aux 7 images brutes sur lesquelles nous moyennons pendant la mesure.

Comme on l'a souligné plus haut, les mesures d'intensité (données polarimétriques brutes) d'une plaque métallique sans (**B**) et avec la correction du capteur (**B'**) sont assez proches,

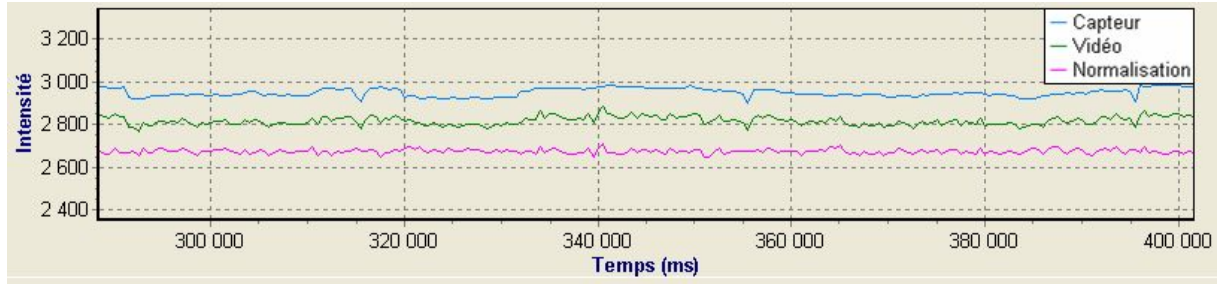


FIG. 3.27 – Intensité du capteur (courbe bleue), de la caméra (courbe verte), et du signal normalisé (courbe rose) sur le pixel central.

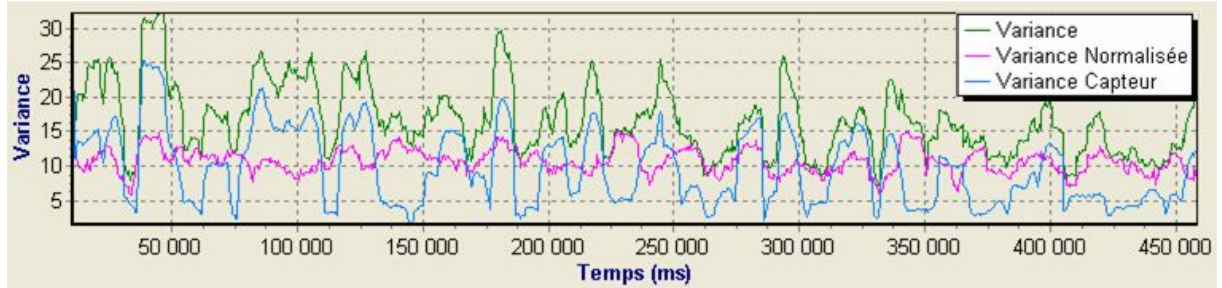


FIG. 3.28 – Variance du signal du capteur (courbe bleue), de la caméra (courbe verte), et du signal normalisé (courbe rose) sur le pixel du milieu de la CCD.

$$\mathbf{B} = \begin{bmatrix} 3101 & 646 & 1432 & 886 \\ 554 & 1558 & 1415 & 3287 \\ 1591 & 3319 & 707 & 1377 \\ 906 & 826 & 3376 & 1572 \end{bmatrix} \quad \mathbf{B}' = \begin{bmatrix} 3181 & 735 & 1428 & 1053 \\ 686 & 1495 & 1368 & 3298 \\ 1544 & 3253 & 722 & 1239 \\ 882 & 797 & 3273 & 1525 \end{bmatrix} \quad (3.46)$$

alors que leurs variances sans correction (\mathbf{Var}) et avec la correction du capteur (\mathbf{Var}') après 40 cycles d'acquisition sur une plaque métallique statique comme échantillon pour les 16 états de polarisation, soient :

$$\mathbf{Var} = \begin{bmatrix} 35,86 & 12,19 & 14,82 & 14,67 \\ 12,01 & 13,21 & 10,59 & 36,75 \\ 17,54 & 40,94 & 12,95 & 15,21 \\ 15,19 & 9,47 & 36,55 & 17,47 \end{bmatrix} \quad \mathbf{Var}' = \begin{bmatrix} 12,24 & 3,73 & 9,26 & 8,50 \\ 6,26 & 10,06 & 8,60 & 9,67 \\ 8,68 & 10,06 & 5,45 & 9,01 \\ 5,32 & 6,07 & 12,84 & 7,97 \end{bmatrix} \quad (3.47)$$

montrent que la correction du signal de la caméra améliore les résultats d'un facteur de 1,2 à 4,1, et ce, rappelons-le, sur chaque pixel.

3.6.4 Correction de la linéarité de la caméra

Compte tenu de tous les calculs d'algèbre linéaire qu'implique le fonctionnement du polarimètre (pour l'étalonnage et pour la mesure) la linéarité de la réponse de la caméra est encore bien plus cruciale que celle du capteur. Divers indices, comme une dépendance significative des valeurs propres des éléments de référence en fonction de l'intensité d'éclairement, nous laissaient penser que cette linéarité n'était pas satisfaisante.

Nous avons utilisé dans un premier temps la même méthode que pour le capteur : nous avons placé la photodiode de référence sur le bord du faisceau d'éclairage du polarimètre de

manière à mesurer l'intensité incidente sans perturber le champ vu par la caméra (figure 3.29). Pour ces mesures, nous avons enlevé les PSG et PSA. Nous avons également enlevé la lentille close-up et nous avons défocalisé l'image de la plaque, afin d'avoir un signal moins bruité. Nous avons décidé de travailler à 700 nm, où nous avons plus de lumière.

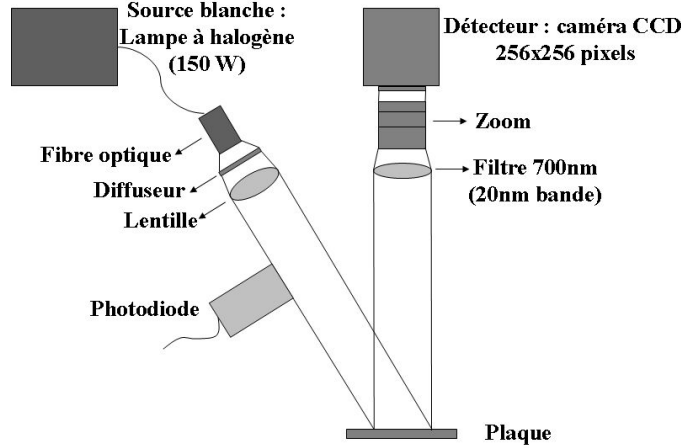


FIG. 3.29 – Montage initial utilisé pour la correction de la linéarité de la caméra avec la photodiode placée sur le côté du faisceau incident.

De même que pour le capteur, dans un premier temps nous avons adapté un polynôme de degré 4 à la courbe donnant le signal de la photodiode en fonction de celui de la caméra (le polynôme n'a toutefois pas de terme constant, en raison de la correction d'offset, qui annule la contribution du signal d'obscurité).

Nous avons introduit cette correction dans le code et nous avons répété la mesure, qui a bien donné la droite attendue (voir figure 3.30), non seulement à 700 nm, mais également à 600 et 500 nm, ce qui confirme que la linéarité de la réponse n'est pas liée à la longueur d'onde de détection, mais essentiellement au niveau du signal détecté, comme on peut s'y attendre si la nonlinéarité est due à l'électronique d'amplification des charges.

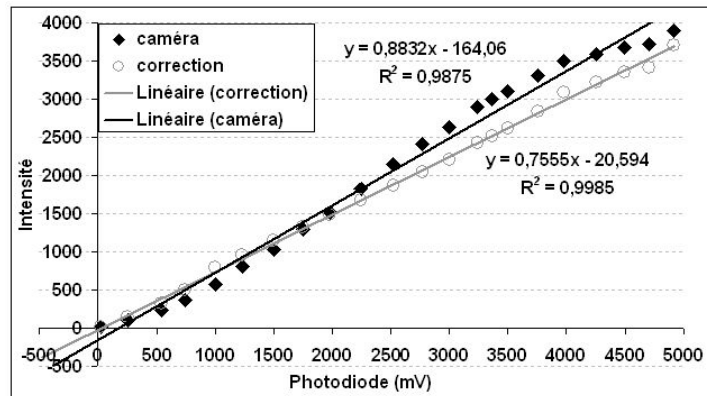


FIG. 3.30 – Signal de la caméra avant et après correction de sa linéarité par rapport au signal de la photodiode mise sur le côté du faisceau incident pour 700 nm.

Cependant, quand nous avons voulu vérifier la stabilité des valeurs propres des éléments de référence au cours de la procédure d'étalonnage du polarimètre quand l'intensité de l'éclairement varie, la correction de linéarité qui vient d'être décrite n'a apporté aucune amélioration par rapport au signal non corrigé (ou plutôt, corrigé uniquement de l'offset).

En changeant la position de la photodiode nous nous sommes aperçus que le faisceau d'éclairage change de forme quand on change son intensité, ce qui, a posteriori peut se comprendre :

dans la source que nous utilisons, le faisceau de fibres est éclairé à travers un diaphragme dont on fait varier l'ouverture pour changer l'intensité, et cette variation de la forme à l'entrée du faisceau de fibres se retrouve (bien que très atténuée) à la sortie. Par conséquent, la photodiode placée au bord du faisceau ne voit pas exactement les mêmes variations d'intensité que la caméra. Ainsi, nous avons décidé de changer le montage et d'utiliser une séparatrice pour envoyer le centre du faisceau sur la photodiode, comme indiqué sur la figure 3.31.

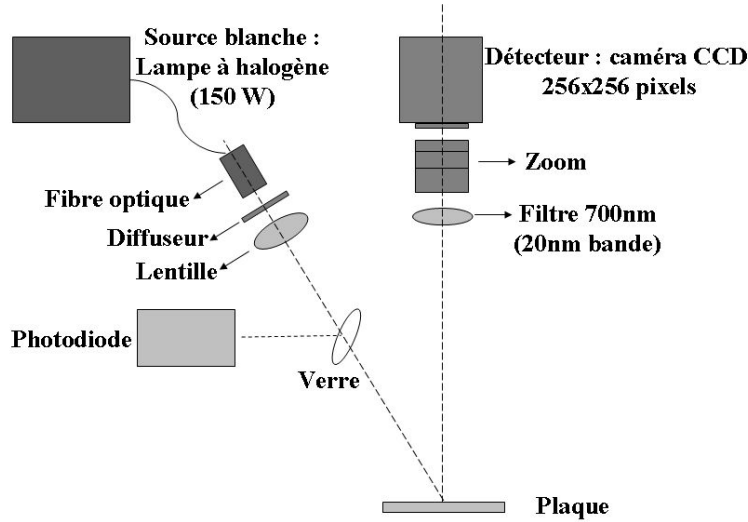


FIG. 3.31 – Montage utilisé pour la correction de la linéarité de la caméra avec la photodiode détectant l'intensité au centre du faisceau lumineux.

Effectivement, en utilisant la correction définie et introduite dans le code avec la photodiode placée au bord du faisceau et en répétant la mesure en envoyant le centre du faisceau sur la photodiode, nous avons une linéarité moins bonne. Sur la figure 3.32 la courbe se rapproche moins d'une droite, le coefficient R^2 est moins élevé et le terme constant dans l'équation augmente en valeur absolue de 17 à 77, ce qui fait que la droite passe plus loin du point origine (0,0), chose qui ne devrait pas arriver, vu que dans la correction le fait que la droite du signal corrigé doit passer par (0,0) est pris en compte.

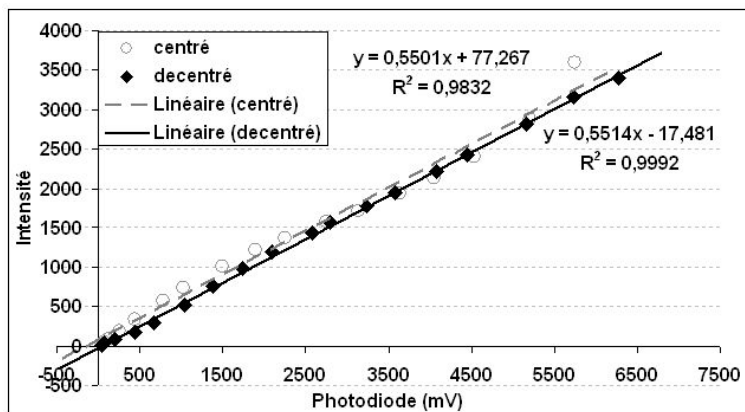


FIG. 3.32 – Signal de la caméra corrigé par rapport à sa linéarité avec la photodiode mise du côté du faisceau incident par rapport au signal mesuré par la photodiode avec les deux configurations : décentrée, avec la photodiode placée du côté du faisceau incident et centrée, avec la photodiode détectant le centre du faisceau lumineux.

Nous avons donc utilisé la correction obtenue avec la séparatrice. Encore une fois les résultats n'étaient ni vraiment reproductibles ni satisfaisants au niveau de la stabilité des valeurs propres.

Cette stabilité dépend en fait beaucoup de la valeur du terme de deuxième ordre du polynôme, qui varie notablement d'une mesure à une autre : les variations de forme du faisceau avec l'éclairage doivent être beaucoup plus compliquées que nous l'imaginions.

Nous avons donc abandonné l'idée d'étalonner la CCD par rapport à la photodiode et avons tenté plutôt de définir une correction optimisant la stabilité des valeurs propres. Plus précisément, nous nous sommes limités à une correction du deuxième degré et avons mesuré l'évolution de la valeur propre non nulle d'un polariseur en fonction du coefficient du terme de deuxième degré. Pour cela, nous avons mesuré les valeurs propres sous deux intensités différentes, en changeant l'ouverture du diaphragme devant la caméra, en sachant que pour une caméra linéaire, les valeurs propres devraient rester constantes indépendamment du niveau d'éclairage. Sur la figure 3.33 nous présentons la valeur propre non nulle du polariseur utilisé mesuré avec un diaphragme ouvert (intensité élevée sur la caméra), un diaphragme plus fermé (intensité basse sur la caméra) et leur différence, pour différentes valeurs du coefficient du terme de deuxième ordre du polynôme utilisé.

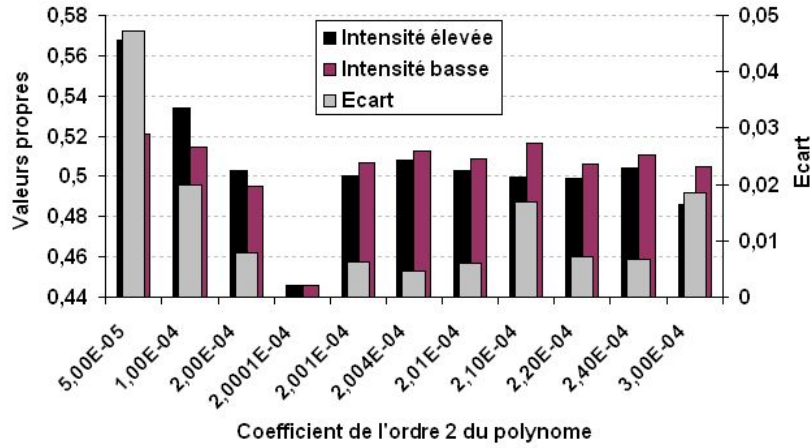


FIG. 3.33 – Valeur propre non nulle d'un polariseur mesurée sous un éclairage fort, un éclairage faible et la différence de deux résultats pour différentes valeurs du coefficient du terme quadratique du polynôme utilisé pour l'ajustement du signal de la caméra.

Ces résultats ne sont pas concluants. Ils sont pas reproductibles et avec le moindre changement du coefficient de l'ordre 2 du polynôme les valeurs propres changent de manière chaotique.

Repartant du principe que les valeurs propres d'un échantillon doivent rester stables sous tous les éclairages, nous avons finalement appliqué cette idée au cas trivial d'une densité optique, dont la matrice de Mueller est l'unité au facteur de transmission près. L'idée est tout simplement de se placer à une intensité de la source donnée, et de relever le signal de la CCD (moyenné sur les 10×10 pixels du milieu) d'abord sans rien, puis avec la densité. On change l'intensité de la source, et on recommence, en prenant soin de placer la densité exactement dans la même position (ce qui en pose aucun problème avec notre banc optique). Même si le faisceau change de forme quand on change son intensité, le rapport des signaux mesurés avec et sans densité doit rester constant. Avec pour seule correction la soustraction de l'offset, nous obtenons pour ce rapport (et une densité de transmission proche de 25 %) une valeur qui dépend du signal de la CCD comme indiqué sur la figure 3.34, donc pas du tout stable.

Nous étudions de nouveau la forme possible de la réponse de la caméra à la lumière incidente. Si nous avons une mesure absolue de l'intensité I à corrélérer avec le signal $s = S - S_0$ détecté sur la caméra et corrigé de l'offset, alors le rapport des signaux mesurés serait évidemment constant pour une réponse linéaire (ligne pointillée sur le graphe 3.35 (a)), alors que pour expliquer une augmentation de ce rapport avec le signal il faut une nonlinéarité du type de celle de la courbe pleine de ce même graphe, a priori bien décrite par un polynôme de deuxième degré :

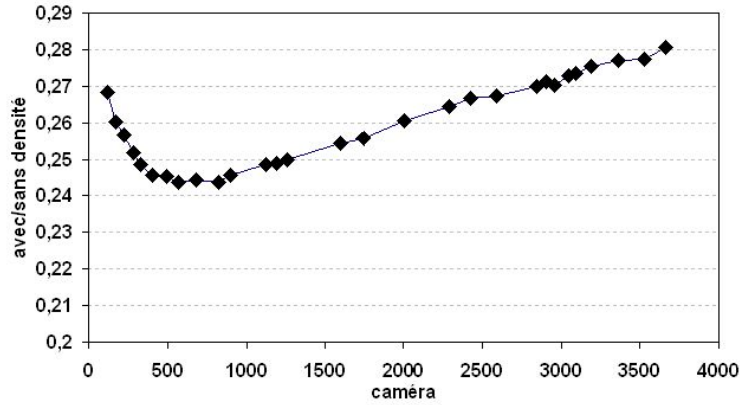


FIG. 3.34 – Rapport du signal détecté par la caméra avec ou sans une densité de transmission 25 % introduite sur le chemin optique, en fonction du signal sur la caméra mesuré sans densité.

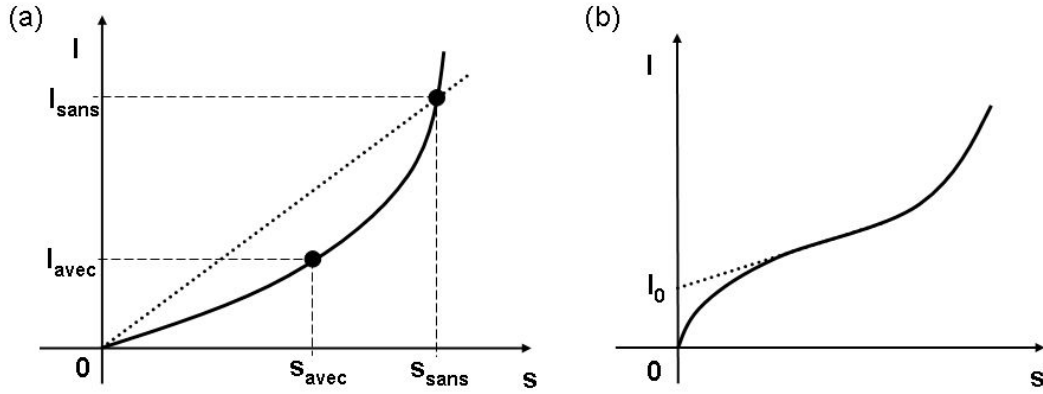


FIG. 3.35 – Forme du signal de la caméra : intensité absolue I par rapport au signal s détecté sur la caméra après la soustraction de l'offset.

$$I = s + \alpha \cdot s^2 \quad (3.48)$$

En revanche, cette correction ne peut pas prendre compte de la rapide diminution du rapport observée sur la courbe 3.34 pour des signaux faibles. Il faut donc a priori ajouter un terme qui donne une concavité vers le bas, et qui disparaisse rapidement quand le signal augmente, ce qui est le cas pour une contribution de la forme :

$$I = I_0 \cdot (1 - e^{-b \cdot s}) \quad (3.49)$$

Finalement, nous partons d'une réponse de la CCD de la forme de :

$$I = (s + \alpha \cdot s^2) + I_0 \cdot (1 - e^{-b \cdot s}) \quad (3.50)$$

et nous calculons les valeurs des paramètres α , β et I_0 qui minimisent la somme des carrés des différences des valeurs expérimentales d'intensité détectée sur la caméra par leur moyenne. Alors, pour les valeurs de :

$$\begin{aligned} I_0 &= 45 \\ \alpha &= 4,92 \cdot 10^{-5} \\ \beta &= 4,66 \cdot 10^{-3} \end{aligned} \quad (3.51)$$

nous arrivons à baisser l'écart-type du rapport intensité mesurée avec / sans densité de 0,01 à 0,003 pour les deux densités optiques utilisées, et de fait nous obtenons une excellente stabilité de ce rapport, sauf pour les très faibles signaux (figures 3.36 et 3.37).

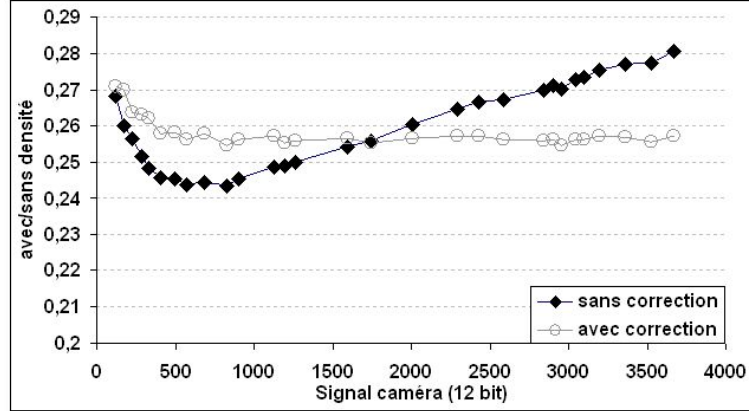


FIG. 3.36 – Rapport du signal détecté par la caméra avec/sans une densité de transmission 25 % introduite sur le chemin optique, par rapport au niveau d'intensité sur la caméra avant et après la correction de linéarité.

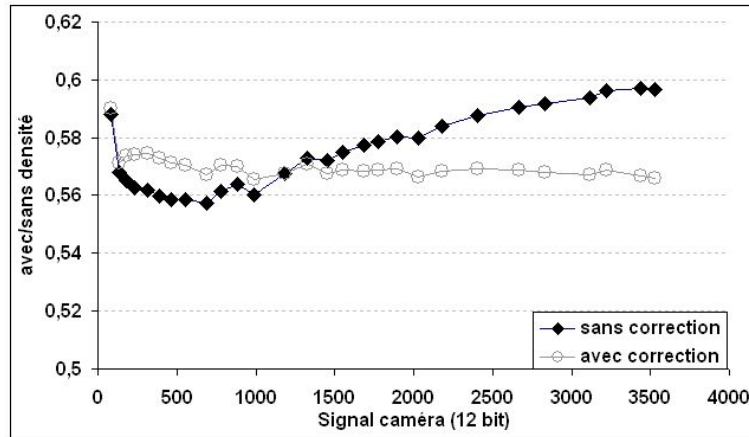


FIG. 3.37 – Rapport du signal détecté par la caméra avec/sans une densité de transmission 55 % introduite sur le chemin optique, par rapport au niveau d'intensité sur la caméra avant et après la correction de linéarité.

Une fois cette correction intégrée dans le logiciel d'acquisition d'images du polarimètre, nous l'avons testée en mesurant les valeurs propres de deux échantillons standards, un polariseur et une lame retard, mesurées à différentes intensités d'éclairage. Sur la figure 3.38 nous présentons la valeur propre non nulle du polariseur mesurée à différents niveaux d'éclairage sans corriger la linéarité de la caméra et après avoir tenu compte de la correction décrite ci-dessus. On constate clairement que la mesure de la valeur propre non nulle du polariseur reste significativement plus stable à différents niveaux d'éclairage après correction (écart-type 0,004) que sans correction (écart-type 0,02).

De même, pour une lame retard nous présentons la partie réelle des deux valeurs propres conjuguées sur le graphe 3.39 et les deux valeurs propres réelles sur le graphe 3.40 mesurées à différentes intensités, sans et avec correction. De même, les valeurs propres deviennent nettement plus stables après la correction de la linéarité de la caméra. Pour les deux valeurs propres conjuguées, nous passons d'un écart-type de 0,002 sans correction à un écart-type de 0,0008 avec la correction. Quant aux deux valeurs propres réelles de la lame retard, nous passons d'un

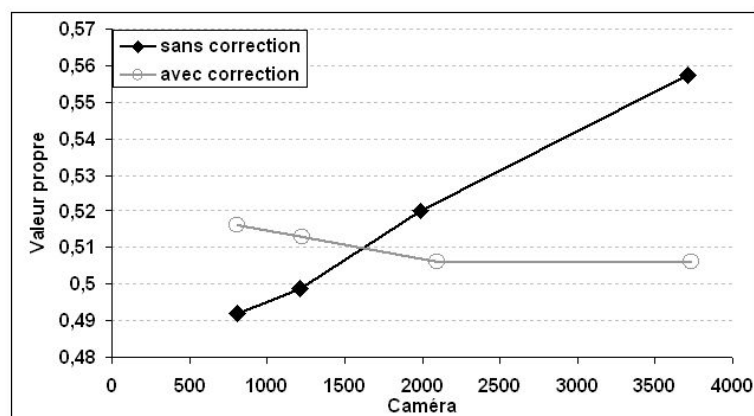


FIG. 3.38 – Valeur propre non nulle pour un polariseur mesurée à 600 nm sans et avec la correction de linéarité de la caméra à différents niveaux d'éclairage.

écart-type de 0,0064-0,007 à un écart-type de 0,0003-0,00065 avec correction.

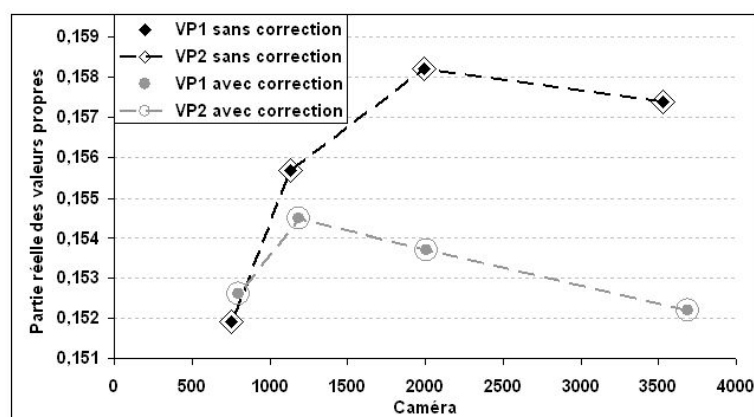


FIG. 3.39 – Partie réelle des deux valeurs propres conjuguées d'une lame retard mesurées à 600 nm sans et avec la correction de linéarité de la caméra à différents niveaux d'éclairage.

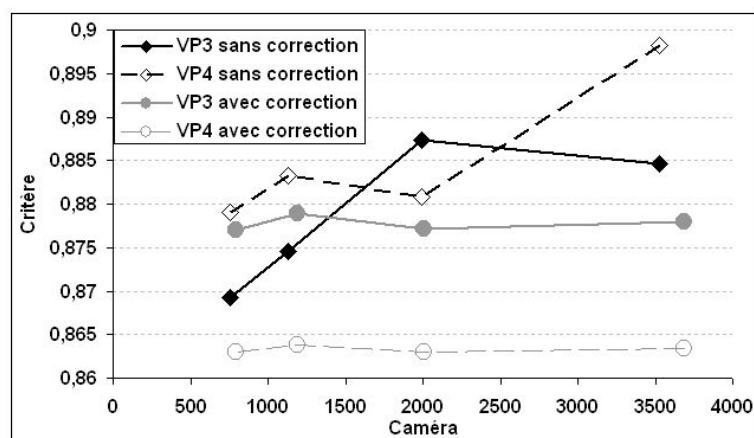


FIG. 3.40 – Deux valeurs propres réelles d'une lame retard mesurées à 600 nm sans et avec la correction de linéarité de la caméra à différents niveaux d'éclairage.

Sur la figure 3.41 nous présentons l'évolution du critère pour la lame retard, défini par l'équation 3.31 et qui dérive directement de la mesure des valeurs propres. Idéalement, la valeur de ce critère devrait approcher l'unité. Pour les mesures sans correction de la linéarité de la

caméra, ce critère approche de l'unité à des intensités élevées (1,007), mais il s'en éloigne lorsque l'éclairage diminue. Par contre, après la correction de la linéarité de la caméra il se stabilise à une valeur de 1,06 en moyenne. Cela apparaît moins bon quand on le compare avec les valeurs atteintes sous éclairage fort sans correction, mais ce qui est plus important est le fait qu'il reste stable. La déviation par rapport à l'unité peut être a priori liée au fait que dans nos conditions d'utilisation (et en particulier avec des faisceaux divergents et de 20 nm de largeur spectrale) la description de la lame par un biréfringent idéal n'est peut être plus valable à la précision requise. Expérimentalement, on voit une variation systématique de quelques pourcent de ce critère avec la géométrie de l'éclairage qui confirme cette interprétation, et qui montre que cette géométrie n'est sans doute pas encore optimale.

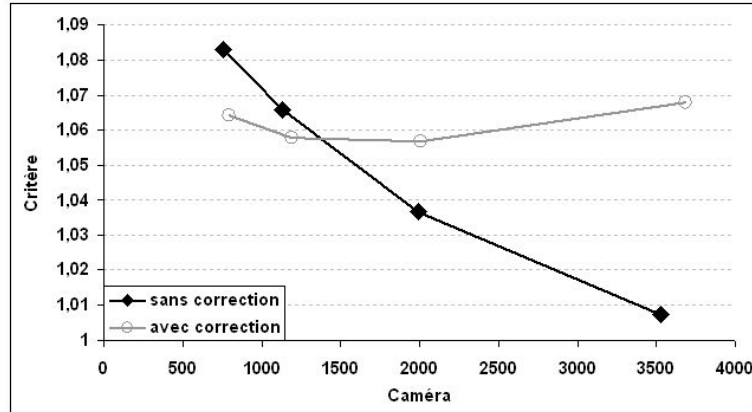


FIG. 3.41 – Critère pour une lame retard mesuré à 600 nm sans et avec la correction de linéarité de la caméra à différents niveaux d'éclairage.

3.6.5 Correction des effets de variation de la température

Un facteur important au niveau de l'utilisation de notre polarimètre est la stabilité de la calibration dans le temps. Etant donné qu'il s'agit d'un appareil destiné à fonctionner (entre autres) en milieu hospitalier, sur des échantillons biologiques que nous ne pouvons pas conserver longtemps, il est important d'avoir une calibration qui reste valable plusieurs heures.

Après des mesures successives dans des pièces non thermalisées, avec des changements de température importantes entre le début de la matinée et la fin de l'après-midi, nous nous sommes aperçus que la calibration ne tenait pas, les mesures étaient moins bonnes à la fin de la journée et nous étions obligés de calibrer le polarimètre assez régulièrement, ce qui n'est pas surprenant vu la dépendance du retard des cristaux liquides en fonction de la température.

Pour remédier à ce problème, on peut évidemment mettre en place une régulation thermique des cristaux. Nous avons cependant voulu évaluer une méthode alternative, consistant à mesurer la température dans la pièce et corriger l'étalonnage en conséquence, ce qui a l'avantage, en cas de succès, de garder le polarimètre plus léger et plus facilement transportable, du fait de l'absence de systèmes de régulation.

Nous avons donc étudié en détail le comportement de notre imageur en fonction de la température ambiante (qui est pratiquement égale à la température des cristaux liquides). Pour cela, nous avons effectué avec Dr. Hyun-Jong Kim une série de calibrations à différentes températures aux trois longueurs d'onde de 500, 600 et 700 nm.

Sur la figure 3.42 nous présentons les résultats sur la matrice \mathbf{W}^{-1} mesuré à des températures de 22 à 26°C sur cinq pixels différents de l'image. A titre indicatif, nous exposons uniquement les éléments (1,1), (2,3), (3,3) et (4,2). Nous constatons que même si les variations spatiales entre les différents pixels de la même image sont plus ou moins importantes, la dépendance des

résultats en fonction de la température est linéaire et la tendance est pratiquement la même pour tous les pixels.

Par la suite, nous avons défini les dépendances linéaires de chaque élément de la matrice \mathbf{W}^{-1} en fonction de la température et nous avons introduit une correction dans le code d'acquisition qui consiste en pratique en une régression linéaire des éléments de la matrice \mathbf{W}^{-1} , en fonction de la température de la calibration, régression qui est ensuite utilisée pour effectuer la correction en fonction de la température de mesure. Nous avons testé cette correction, en effectuant des mesures successives de la matrice de Mueller d'une plaque métallique, plusieurs heures après la calibration. Les résultats pour 500 nm sont présentés sur la figure 3.43.

Nous constatons qu'avec cette correction certains éléments de la matrice de Mueller s'avèrent :

- remarquablement plus stables que sans correction, comme M_{14} , M_{23} , M_{24} , M_{31} , M_{32} , M_{33} et M_{43}
- un peu plus stables que ce que nous avons sans correction, voir M_{42} par exemple
- pratiquement identiques que sans correction, voir M_{11} , M_{13} , M_{22} , M_{34} et M_{44}
- dans le sens opposé des résultats sans correction, mais plus linéaires, dans tous les cas, voir M_{12} , M_{21} et M_{41} .

Pour résumer, même si cette correction n'est pas parfaite pour tous les éléments de la matrice de Mueller, au moins, elle ne donne jamais de résultats moins bons que les mesures sans correction. Finalement, nous aurons sans doute besoin d'un système de régulation de température pour les cristaux liquides afin d'avoir une calibration vraiment stable. Ceci rendra notre polarimètre un peu moins facilement transportable et c'est pour cette raison que nous avons cherché d'abord une solution alternative, plus facilement applicable et moins contraignante.

3.7 Evaluation de la précision du polarimètre

Après les optimisations décrites ci-dessus effectuées sur notre polarimètre, nous avons voulu évaluer sa précision. Pour cela, nous avons effectué des mesures de la matrice de Mueller de deux échantillons polarimétriques standards, un polariseur et une lame retard à différents angles, positionnés une fois dans le bras de sortie du polarimètre (figure 3.7) et une fois dans le bras d'entrée (figure 3.6).

Nous avons décidé de travailler à 600 nm, au milieu du spectre opératoire de notre polarimètre. Les résultats sont présentés sur les graphes qui suivent.

Pour des échantillons placés dans le bras de sortie du polarimètre, la matrice \mathbf{B} mesurée est égale à :

$$\mathbf{B} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_{pr} \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{W} \quad (3.52)$$

où \mathbf{M}_0 est la matrice de la plaque et \mathbf{M}_{pr} la matrice du polariseur ou de la lame retard respectivement que nous cherchons à mesurer. Il suit que la matrice recherchée va être égale à :

$$\mathbf{M}_{pr} = \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{B} \cdot \mathbf{M}_0^{-1} \cdot \mathbf{W}^{-1} \quad (3.53)$$

Par conséquent, en plus des matrices de calibration, il faudra mesurer la matrice de Mueller de la plaque toute seule, l'inverser et la multiplier par la matrice mesurée avec l'échantillon pour extraire cette dernière.

Les éléments non nuls de la matrice de Mueller du polariseur mesurés à différents angles du polariseur sont représentés sur la figure 3.44, graphe du haut. Le M_{11} reste pratiquement stable et tous les autres éléments suivent des sinusoides, avec leur maxima au même niveau que le M_{11} , comme attendu. Quant aux éléments nuls de la matrice de Mueller, représentés sur la même figure, graphe du bas, ils restent pratiquement nuls pour tous les angles, avec des erreurs de mesure qui atteignent au maximum $\pm 0,3$ %.

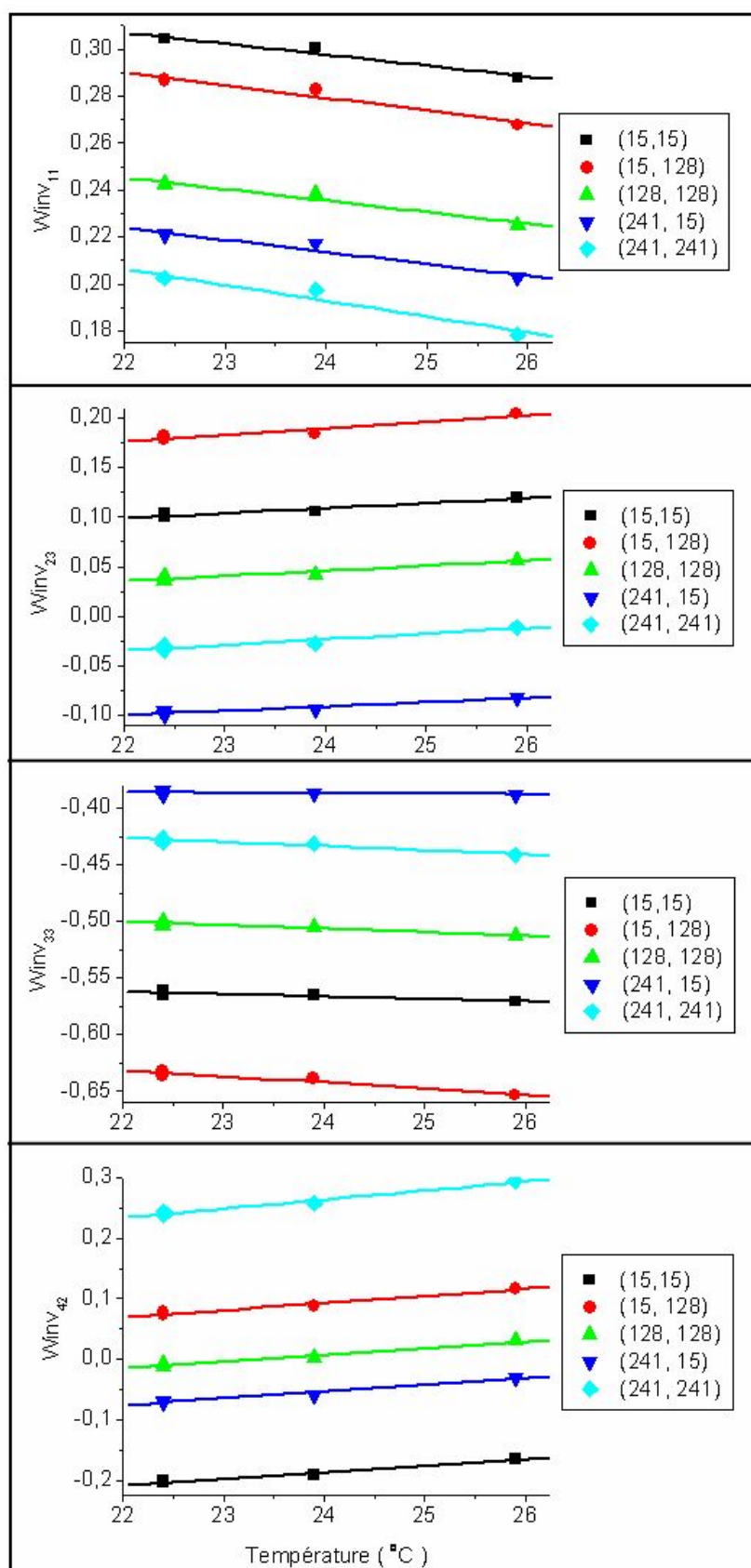


FIG. 3.42 – Les éléments (1,1) (2,3), (3,3) et (4,2) de la matrice de calibration \mathbf{W}^{-1} mesurée à 500 nm : valeurs de cinq pixels de la caméra (15,15), (15,128), (128,128), (241,15) et (241,241) à différentes températures de 22 à 26°C.

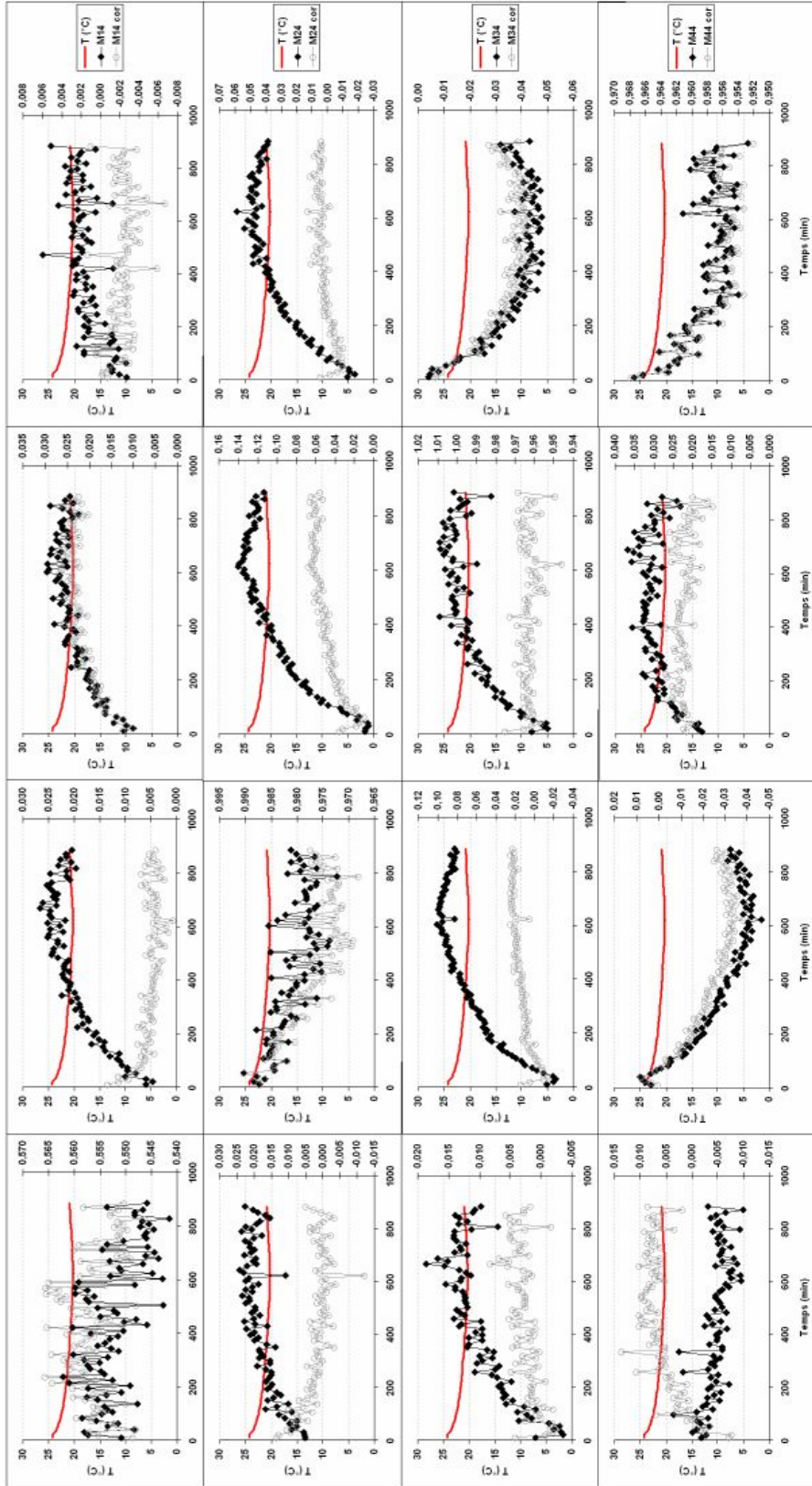


FIG. 3.43 – Evolution de la matrice de Mueller d’une plaque métallique mesurée à 500 nm, sans (en noir) et avec la correction (en gris) des effets de température, plusieurs heures après calibration du polarimètre. L’évolution de la température est également indiquée sur les graphes (en rouge) pendant l’intervalle des mesures.

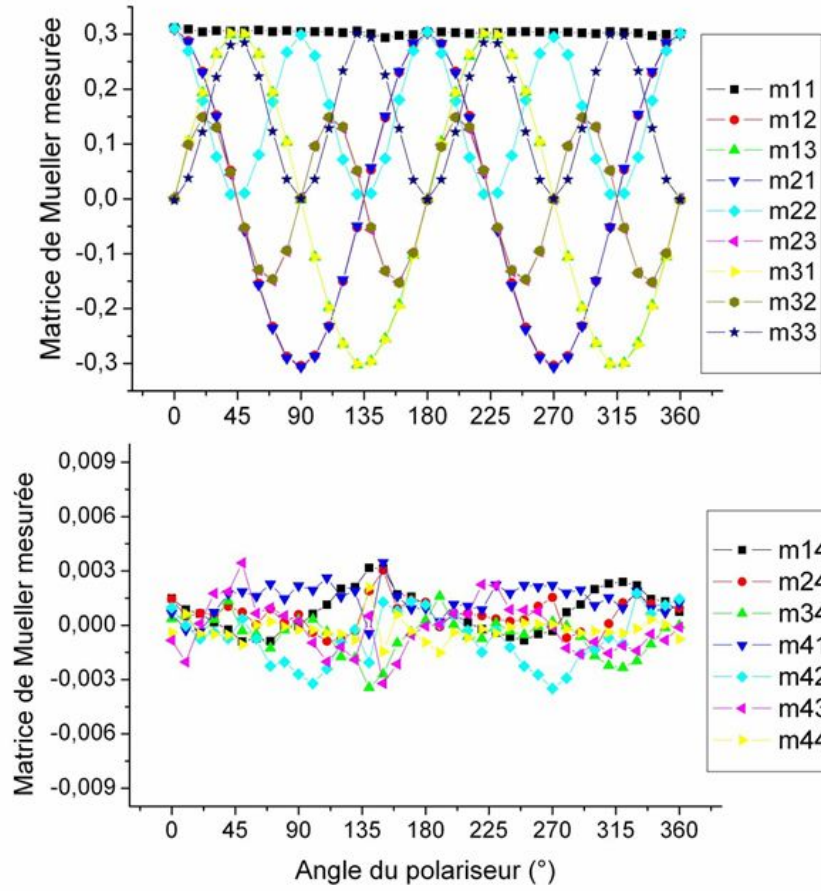


FIG. 3.44 – Elements de la matrice de Mueller non nuls (en haut) et nuls (en bas) pour le polariseur positionné dans le bras de sortie du polarimètre à différents angles, mesurés à 600 nm.

Quant à la lame retard, les résultats sont identiques, avec ses éléments non nuls de la matrice de Mueller sinusoïdaux (figure 3.45, graphe du haut), un M_{11} stable, et ses éléments censés être nuls restant très proches de zéro (figure 3.45, graphe du bas) avec des erreurs de mesure qui atteignent $\pm 1,5\%$.

Par la suite, nous présentons les résultats avec la lame retard placée dans le bras d'entrée du polarimètre (figure 3.6). Dans ce cas, la matrice de Mueller \mathbf{B} mesurée est donné par l'équation :

$$\mathbf{B} = \mathbf{A} \cdot \mathbf{M}_0 \cdot \mathbf{M}_{pr} \cdot \mathbf{W} \quad (3.54)$$

et il faudra multiplier la matrice \mathbf{B} avec l'inverse de la matrice de la plaque \mathbf{M}_0^{-1} de l'autre côté afin d'obtenir la matrice finale \mathbf{M}_{pr} de la lame retard :

$$\mathbf{M}_{pr} = \mathbf{A}^{-1} \cdot \mathbf{M}_0^{-1} \cdot \mathbf{B} \cdot \mathbf{W}^{-1} \quad (3.55)$$

Ces résultats suivent les mêmes tendances que les résultats présentés ci-dessus avec les éléments polarimétriques positionnés dans le bras de sortie du polarimètre. Ils sont tout à fait satisfaisants, mais malgré tout un peu moins bons, avec un M_{11} qui fluctue plus, et les éléments nuls restent majoritairement dans $\pm 1,5\%$ d'erreur, à l'exception de quelques points qui dépassent. Les erreurs un peu plus importantes sur les mesures effectuées dans le bras d'entrée du polarimètre sont peut-être dues au fait que le faisceau lumineux est probablement mieux collimaté à la sortie qu'à l'entrée. Le retard de la lame étant sensible à l'orientation du

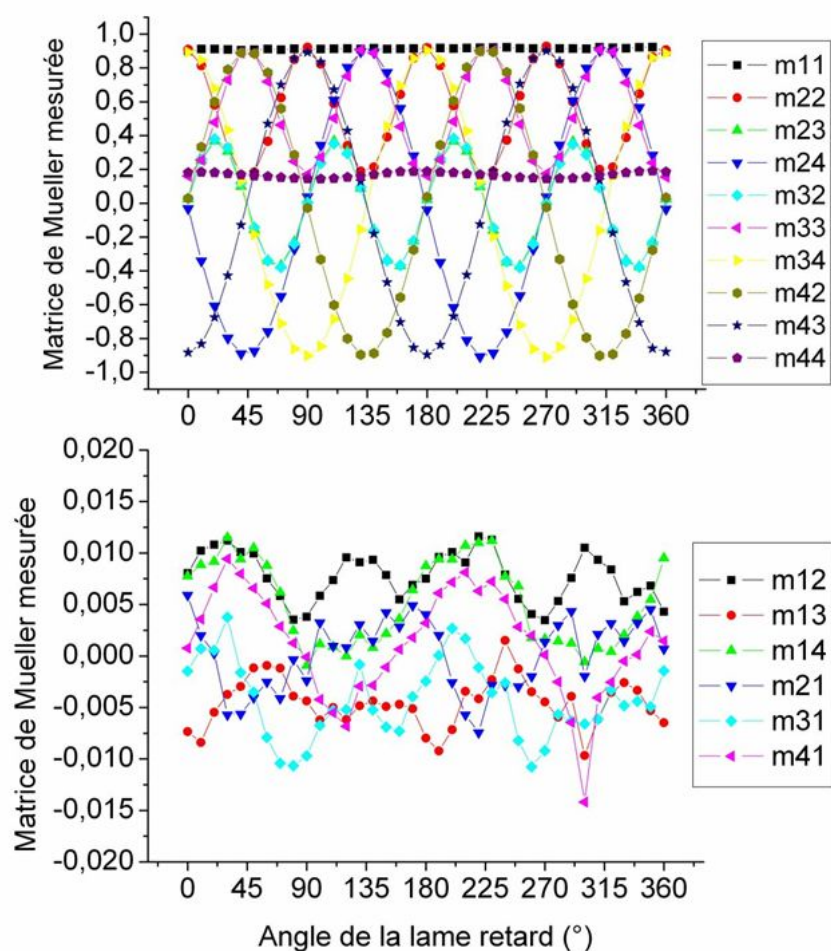


FIG. 3.45 – Elements de la matrice de Mueller non nuls (en haut) et nuls (en bas) pour la lame retard positionnée dans le bras de sortie du polarimètre à différents angles, mesurés à 600 nm.

rayon lumineux qui la traverse par rapport à ses axes, sur un faisceau non collimaté la réponse polarimétrique de la lame peut dépendre de son azimut.

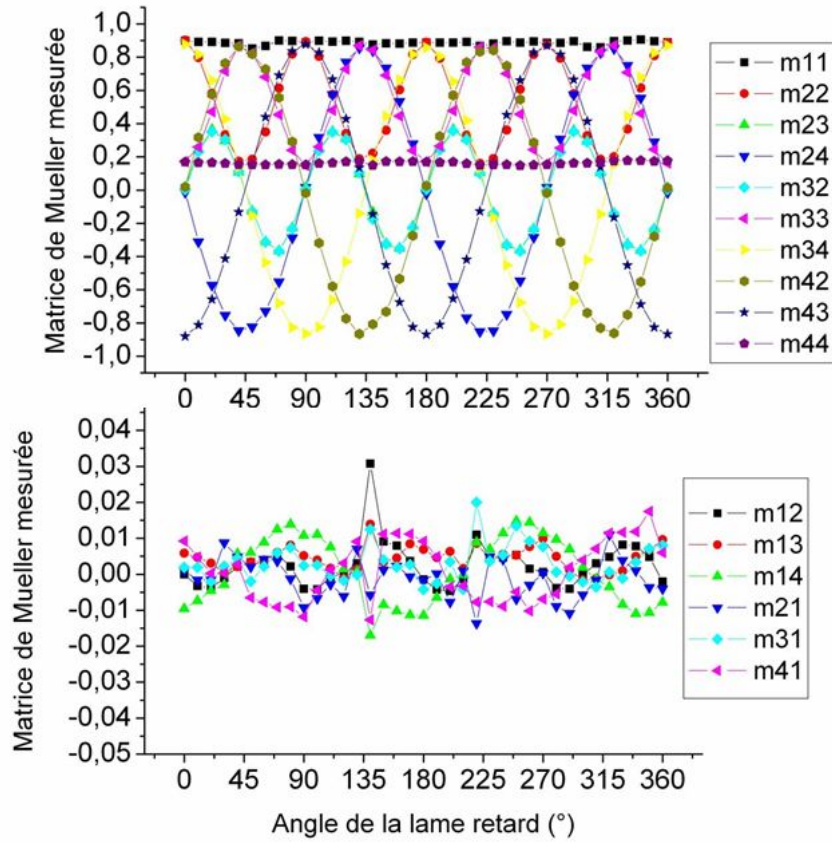


FIG. 3.46 – Elements de la matrice de Mueller non nuls (en haut) et nuls (en bas) pour la lame retard positionnée dans le bras d'entrée du polarimètre à différents angles, mesurés à 600 nm.

3.8 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons décrit le polarimètre imageur de Mueller à cristaux liquides en réflexion que nous avons développé dans notre laboratoire. Après un bref exposé du principe de mesure et de l'étalonnage de l'appareil, nous avons présenté notre travail d'optimisation du fonctionnement de notre instrument.

Tout d'abord, nous avons optimisé les valeurs de tension appliquée aux cristaux liquides, de manière à minimiser le conditionnement des matrices de modulation et d'analyse, sur lesquelles nous avons diminué le bruit spatial par un lissage adéquat.

Deux autres problèmes que nous avons mis en évidence en utilisant l'instrument sont les fluctuations de l'intensité de la source à halogène et la non-linéarité de la caméra. Pour le premier, nous avons intégré une mesure supplémentaire de l'intensité de la source à temps réel, et nous avons normalisé le signal de la caméra par rapport à l'intensité de l'éclairage. Ensuite, nous avons corrigé la non-linéarité de la caméra avec une méthode originale, simple et robuste, que nous avons validée par la stabilité des valeurs propres des matrices de Mueller de deux composants polarimétriques, un polariseur et une lame retard, quand l'intensité varie.

Nous avons aussi tenté de corriger les effets des fluctuations de la température sur nos mesures en étudiant les pentes des différents éléments de la matrice de Mueller pour un échantillon standard avec la température. Les résultats étaient plus ou moins satisfaisants, selon l'élément de la matrice de Mueller étudié, et montrent qu'une régulation des cristaux liquides est certainement nécessaire à plus long terme.

Enfin, après avoir intégré toutes les corrections décrites ci-dessus dans le logiciel de l'imageur, nous avons évalué la précision de nos mesures à l'aide de deux échantillons polarimétriques standard, un polariseur et une lame retard à différents angles. Les résultats étaient satisfaisants, suivant bien les tendances théoriques et l'erreur que nous puissions avoir était entre 0,3 et 1,5 %, selon le cas, ce qui est tout à fait acceptable pour nos mesures et notre instrument.

Par la suite, nous allons voir l'usage de notre imageur à une application réelle dans le domaine biomédical : le diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aiguë sur modèle animal.

Troisième partie

Applications Biomédicales

Chapitre 4

Application au diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aiguë

Les accidents dus aux rayonnements ionisants constituent des événements rares. Depuis une cinquantaine d'années 560 accidents radiologiques connus dans le monde ont entraîné le décès d'environ 180 personnes [36]. Le milieu de survenue des accidents est assez varié. Le secteur industriel a été responsable du 51 % du nombre total d'accidents radiologiques graves, suivi par la recherche avec 20 %, le nucléaire civil avec 13 %, la médecine avec 11 % et les activités militaires avec 5 % (figure 4.1). Le nombre de victimes par secteur n'est pas dans la même proportion. Chacun des accidents du secteur industriel ne cause souvent qu'une seule victime, l'opérateur de la source radioactive. Il s'agit habituellement d'une erreur humaine. A l'inverse, dans le domaine médical, les accidents dus à des surdosages lors de radiothérapies impliquent le plus souvent toute une série de patients. La cause est notamment un dysfonctionnement de l'appareil médical, souvent au niveau du réglage, et l'accident n'est reconnu que lorsque les mêmes symptômes alarmants apparaissent chez plusieurs patients. Les accidents survenus dans le secteur militaire constituent un domaine difficile à explorer, en raison principalement du secret dont ils sont entourés. Le risque est grand de sous-évaluer leur nombre et leur gravité. La situation est souvent plus compliquée quand les victimes sont en grand nombre et elle s'apparente à une catastrophe. Les décisions dans ce cas-ci incombent aux pouvoirs publics.

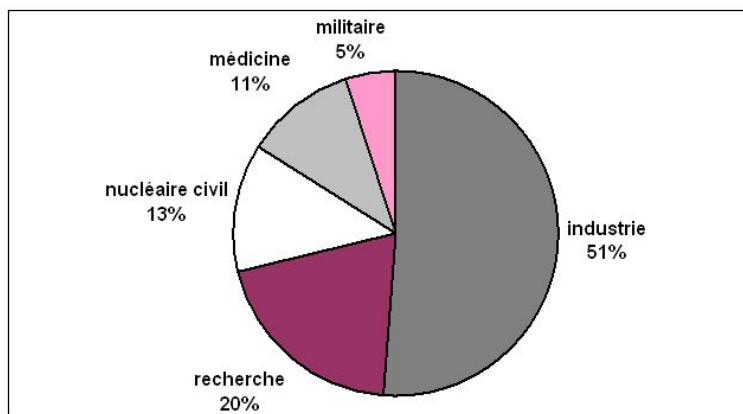


FIG. 4.1 – Pourcentage d'accidents radiologiques graves selon le milieu de survenue.

Le syndrome aigu d'irradiation en général est un syndrome majeur dû aux effets des rayonnements ionisants à forte dose. C'est la létalité cellulaire radio-induite, et tout particulièrement

la mort mitotique, qui a été considérée comme le phénomène déterminant du développement de la lésion tissulaire, elle-même à l'origine des pathologies radio-induites observées au niveau de l'organe et de l'organisme. La définition de ce syndrome prend en compte non seulement les effets des rayonnements ionisants au niveau cellulaire au sens strict, mais aussi au plan des communications intercellulaires dont les perturbations peuvent être à l'origine d'un véritable syndrome inflammatoire systémique et d'une défaillance multiviscérale.

La peau est le premier tissu lésé lors des irradiations externes, les lésions sont apparentes et la tolérance cutanée est le facteur limitant les niveaux d'exposition. Par la suite, nous allons nous intéresser plus particulièrement au syndrome *cutané* d'irradiation aiguë.

Malgré sa rareté, la pathologie cutanée radio-induite est plus difficile à traiter qu'aux brûlures thermiques ou chimiques parce que :

- Elle est moins bien étudiée que les deux autres types de brûlures.
- Elle présente des caractéristiques spécifiques, comme l'évolution dynamique des lésions, qui peuvent retarder ou même compromettre la reconnaissance de l'accident ou de sa nature radiologique.
- La structure de la peau et celle des tissus sous-jacents comportent de nombreux composants cellulaires dont les réponses à l'irradiation peuvent être très différentes.
- L'absorption du rayonnement incident par les tissus (le rendement en profondeur) peut lui aussi être très différent d'un cas à l'autre (énergie du rayonnement, distance source-peau, interposition d'écrans absorbants, localisation) et donner lieu à des symptomatologies très variées.

Toutes ces caractéristiques compliquent la tâche des médecins.

Avant de passer au descriptif de la maladie, nous allons présenter l'anatomie et les propriétés optiques de la peau, dont la connaissance est indispensable pour le diagnostic (optique et autre) et le pronostic des radiolésions : la profondeur où se trouvent les différents types de cellules conditionnera leur niveau d'irradiation ; leurs rapports anatomiques permettront de prévoir le processus d'extension et les caractéristiques des lésions. En ce qui concerne la physiologie, les temps de renouvellement des différents types de cellules conditionneront la chronologie d'apparition des lésions et de leur éventuelle restauration.

4.1 La peau : anatomie et propriétés optiques

4.1.1 La structure de la peau

La peau consiste essentiellement en trois couches tissulaires : l'épiderme, le derme et le tissu sous-cutané (hypoderme). Leur structure apparaît sur la figure 4.2.

La partie la plus superficielle de la peau, l'épiderme, est une couche fine qui consiste en 10 – 15 séries de cellules épithéliales, appelées keratinocytes. Ces cellules migrent de manière continue vers la surface à travers une couche germinative.

Le derme est significativement plus épais que l'épiderme, il contient moins de cellules et comprend essentiellement du tissu conjonctif. Les organes qui traversent le derme sont les vaisseaux sanguins, les organes du système lymphatique, les nerfs et les follicules pileux.

La couche la plus profonde, le tissu sous-cutané ou hypoderme, est essentiellement composé de tissu graisseux et sert d'isolant et d'absorbeur de chocs [37].

¹Figure issue du site internet <http://www.lionden.com>

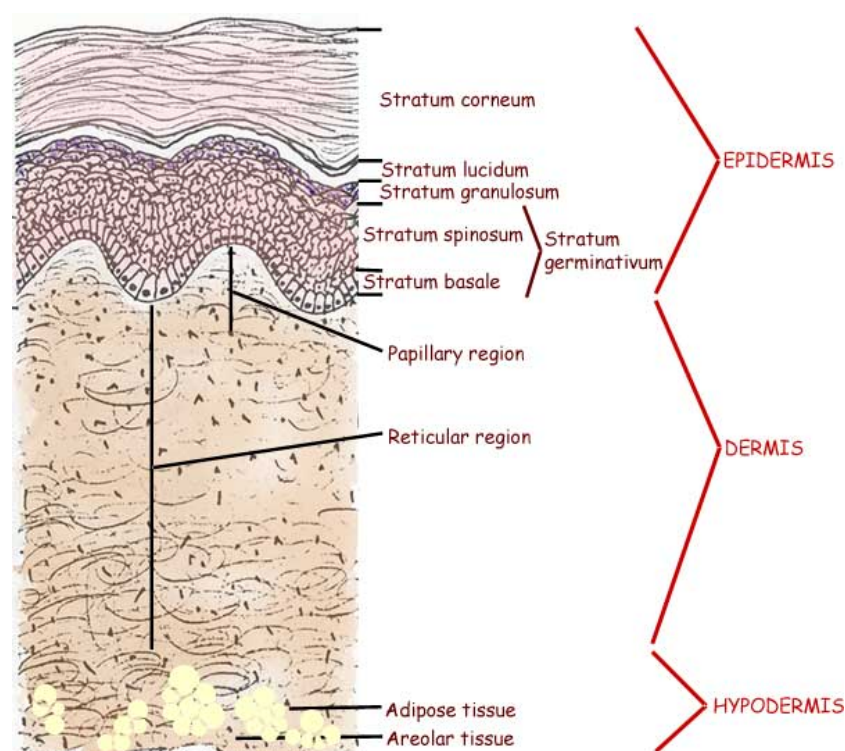


FIG. 4.2 – Structure générale de la peau. Coupe transversale de la peau, vue microscopique¹.

L'épiderme

Les keratinocytes de l'épiderme produisent de la kératine, la lipoprotéine fibreuse protectrice de la peau [37]. Pendant que les keratinocytes se différencient et migrent vers la surface de la peau, des granules apparaissent dans le cytoplasme en formant le *stratum granulosum*. Finalement, ces cellules perdent leur noyau, se déshydratent et s'aplatissent en formant des cellules polygonales mortes avec une surface à peu près 25 fois plus large que celle des cellules basales. Ce dépôt serré et affermi constitué par des cellules mortes et aplaties riches en kératine, forme le *stratum corneum* et les cellules sont appelées corneocytes. Dans une peau normale, une cellule fille met 14 jours pour atteindre le stratum corneum depuis la membrane basale, et encore une ou deux semaines avant qu'elle soit affaissée à la surface de la peau. Le stratum corneum atténue le rayonnement ultra-violet avant qu'il atteigne des cellules vivantes.

Dans la couche basale de l'épiderme est localisée la mélanine, un polymère amorphe complexe, composé par des produits d'oxydation de la tyrosine et des protéines. Des cellules spécialisées appelées melanocytes et qui proviennent du tissu neural de crête, résident dans la couche basale de l'épiderme et produisent des granules contenant de la mélanine, les melanosomes. Ceux-ci sont transmis vers les keratinocytes de l'épiderme par des processus dendritiques. Comme les keratinocytes migrent vers la surface, une partie de mélanine est également transférée vers la surface de la peau, apparaissant éventuellement dans le stratum corneum. Malgré cette migration, la concentration la plus importante de la mélanine reste dans la couche basale. Au niveau des propriétés optiques, il faut noter que la mélanine absorbe essentiellement dans les courtes longueurs d'onde du spectre visible et dans l'ultra-violet.

Le derme

Le derme est un mélange de fibres, cellules et vaisseaux immergés dans une gelée visqueuse d'eau et de mucopolysaccharides qui diffuse fortement la lumière. On y trouve trois principaux types de fibres : le collagène, le réticulum et l'élastine. Le collagène est une longue molécule

protéique constituée de fibrilles entrelacées qui permettent l'extension et la contraction tout en maintenant une force de traction. Il constitue 70 % du poids sec du derme et il est biréfringent. La diffusion de la lumière par le collagène joue un rôle essentiel dans les propriétés optiques du derme. Les fibres de reticulum servent à lier les faisceaux de collagène et les fibres dispersées d'élastine confèrent son élasticité à l'ensemble du derme. Des cellules dispersées, appelées fibroblastes produisent les fibres, les protéines et les matériaux visqueux du derme [37].

La couche la plus superficielle du derme, le *derme papillaire*, est fait d'un tissu conjonctivo-élastique lâche. Il contient un plexus extensif de capillaires, d'organes du système lymphatique et de nerfs. Des lymphocytes dispersés abandonnent les vaisseaux sanguins de cette couche, en lui donnant un aspect plus cellulaire que le *derme réticulaire* sous-jacent. Cette dernière couche profonde est constituée d'un tissu conjonctivo-élastique dense, formé de faisceaux de fibres conjonctives étroitement enchevêtrées, qui se croisent selon deux directions privilégiées, dont la principale est parallèle à la surface de la peau, et mêlées à un réseau abondant et épais de fibres élastiques [38]. Elle est donc plus fibreuse, elle contient des vaisseaux plus larges, moins de cellules et une quantité plus petite de substance fondamentale par rapport au derme papillaire. Normalement le derme ne contient pas du tout de mélanine [37].

La structure de la peau est résumée dans le tableau 4.1.

4.1.2 Les propriétés optiques de la peau

L'interaction de la lumière avec la peau peut être schématisée comme sur la figure 4.3.

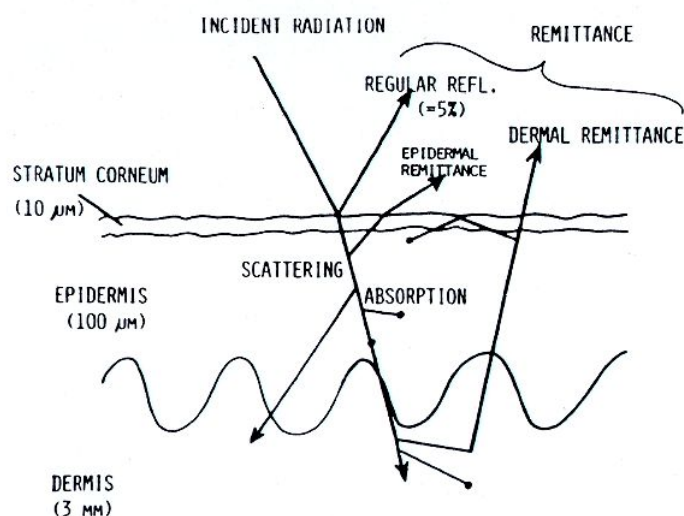


FIG. 4.3 – Représentation schématique de l'interaction de la lumière avec la peau [37].

Réflexion

En incidence quasi-normale, une petite fraction de la lumière incidente est réfléchiée en raison de la discontinuité d'indice de réfraction entre l'air ($n_D = 1,00$) et le stratum corneum ($n_D \approx 1,55$). Cette réflexion "spéculaire" sur la peau normale est de l'ordre de 4 à 7 % sur tout le spectre entre 250 et 3000 nm. Malgré la rugosité de la peau, quand l'angle macroscopique d'incidence augmente, cette réflexion aura tendance à augmenter, d'une façon analogue à ce qui est observé sur une surface plane (voir figure 4.4), mais pas dans les mêmes proportions, du fait de la diffusion à la surface et en volume.

Puisque la réflexion directe atteint 4 à 7 % de l'intensité incidente, la fraction du rayonnement qui entre dans la peau est 93 à 96 %. Dans les différentes couches de la peau, ce rayonnement

| Couche | Epaisseur typique (μm) | Structure fondamentale |
|--------------------|-------------------------------------|--|
| Stratum corneum | 8 – 15 | 10 – 20 couches unicellulaires de keratinocytes morts et aplatis, déposés de manière très dense et remarquablement régulièrement arrangée. Riche en la lipoprotéine kératine. Elle contient des granules de mélanine et du carotène. |
| Stratum lucidum | 2 | 2 – 3 couches unicellulaires. Cellules aplatis, déposés de manière très dense, sans granules, ni noyaux. Uniquement présent dans les peaux épaisses des paumes de main et des pieds |
| Stratum granulosum | 3 | 2 – 4 couches unicellulaires Cellules granulaires entre l'épiderme vivant et le stratum corneum. |
| Stratum spinosum | 50 – 150 | 10 – 20 couches de keratinocytes, qui produisent les matériaux de stratum corneum quand ils se différencient et s'aplatent, pendant leur mouvement vers l'extérieur |
| Couche basale | 5 – 10 | Couche unicellulaire de cellules prismatiques basales, qui se divisent pour produire une alimentation continue en keratinocytes. Les melanocytes y sont également présents, qui produisent les granules du colorant de mélanine et transfèrent ces melanosomes à l'intérieur des keratinocytes |
| Derme | 1000 – 4000 | Tissu conjonctif composé des fibres de collagène, de réticulum et de l'élastine et de la substance fondamentale (du gel). Des cellules moins nombreux par rapport à l'épiderme. Le derme superficiel (papillaire) contient une grande quantité de capillaires, d'organes du système lymphatique et des nerfs |

TAB. 4.1 – Les différentes couches de la peau [37].

va être soit absorbé, soit diffusé. Ce sont ces deux processus qui déterminent la profondeur de pénétration de la lumière dans la peau.

Absorption

La plus grande partie de la lumière absorbée est rapidement convertie par désexcitation non-radiative en chaleur, qui est ensuite dissipée. Les effets biologiques du rayonnement optique résultent soit de réactions photochimiques directes soit de la production de chaleur. Cet échauffement est initialement localisé à proximité des chromophores qui absorbent de la lumière, puis se propage par diffusion vers de plus grands volumes de tissus. Une petite partie du rayonnement absorbé, particulièrement dans la région ultra-violet du spectre, génère de la fluorescence, la phosphorescence et la photochimie qui initialise des réponses photobiologiques. Les longueurs d'onde auxquelles des phénomènes photobiologiques se produisent sont celles auxquelles les grandes molécules ou colorants qui initialisent les réactions photochimiques, absorbent.

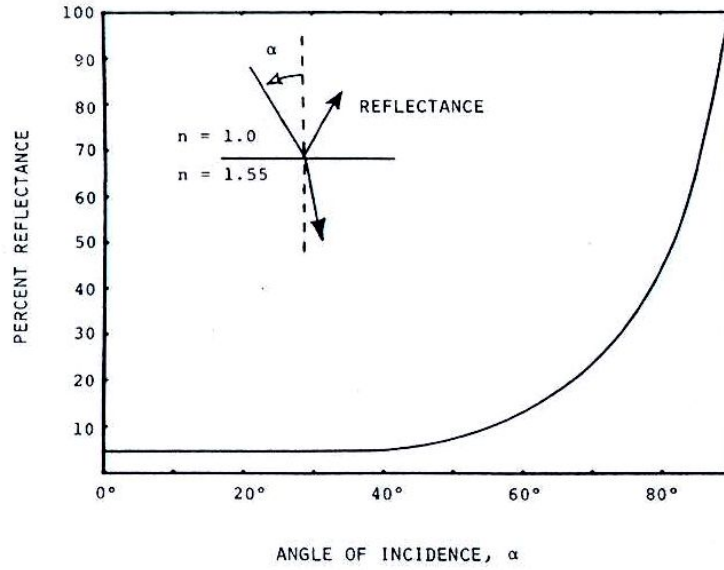


FIG. 4.4 – Réflexion spéculaire sur une interface plate d'un matériau d'indice de réfraction égal à 1,55 [37].

Dans un milieu non diffusant, l'absorption d'un rayonnement monochromatique collimaté en incidence normale suit la loi de Beer-Lambert [7] :

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu_\alpha \cdot L} \quad (4.1)$$

où I_0 est l'intensité du rayonnement à l'entrée, I son intensité à la sortie, L l'épaisseur du matériau traversé et μ_α le coefficient d'absorption du matériau, exprimé le plus souvent en cm^{-1} .

Diffusion

Quand un photon est absorbé, son énergie est transférée à la molécule de chromophore. En revanche, la diffusion est en général une interaction élastique¹ entre le rayonnement optique et la matière, au cours de laquelle seule la direction de propagation du photon est modifiée. La diffusion résulte des inhomogénéités d'indice de réfraction de la matière, qui correspondent aux inhomogénéités physiques.

De même, dans un milieu non absorbant, la diffusion d'un rayonnement monochromatique collimaté en incidence normale dans un matériau d'épaisseur L suit également la loi de Beer-Lambert :

$$I = I_0 \cdot e^{-\mu_s \cdot L} \quad (4.2)$$

où I_0 est l'intensité du rayonnement à l'entrée, I son intensité à la sortie, et μ_s est le coefficient de diffusion du matériau, exprimé dans la plupart de cas en cm^{-1} .

La distribution spatiale et l'intensité de la lumière diffusée dépendent de la forme et de la taille des inhomogénéités par rapport à la longueur d'onde, ainsi que du contraste d'indice. Pour cela, nous introduisons deux autres grandeurs, le paramètre de taille x , ainsi que l'indice de réfraction relatif n_r , définis selon les équations 4.3 et 4.4 :

¹Quelques types de diffusion, comme le Raman, sont inélastiques, avec un changement de la longueur d'onde, mais ils sont beaucoup moins probables que la diffusion élastique.

$$x = \frac{2\pi r}{\lambda} \quad (4.3)$$

où r est le rayon de la particule et λ la longueur d'onde.

$$n_r = \frac{n_p}{n_{med}} \quad (4.4)$$

où n_p est l'indice de réfraction de la particule et n_{med} celui du milieu.

On distingue ainsi trois régimes de diffusion :

1. Le *régime de diffusion Rayleigh* concerne les molécules ou des particules petites, plus petites que l'un dixième de la longueur d'onde. La diffusion est quasiment isotrope (figure 4.5 (a)), polarisée et varie en raison inverse de la quatrième puissance de la longueur d'onde.
2. Le *régime de diffusion intermédiaire*, pour des particules de taille comparable à la longueur d'onde. La diffusion est plus efficace que dans le régime Rayleigh (essentiellement en raison de la taille des diffuseurs), plus orientée vers l'avant et est inversement proportionnelle à la longueur d'onde.
3. Le *régime de diffusion de Mie* concerne les particules dont la taille dépasse largement la longueur d'onde. La diffusion est très dirigée vers l'avant et essentiellement indépendante de la longueur d'onde.

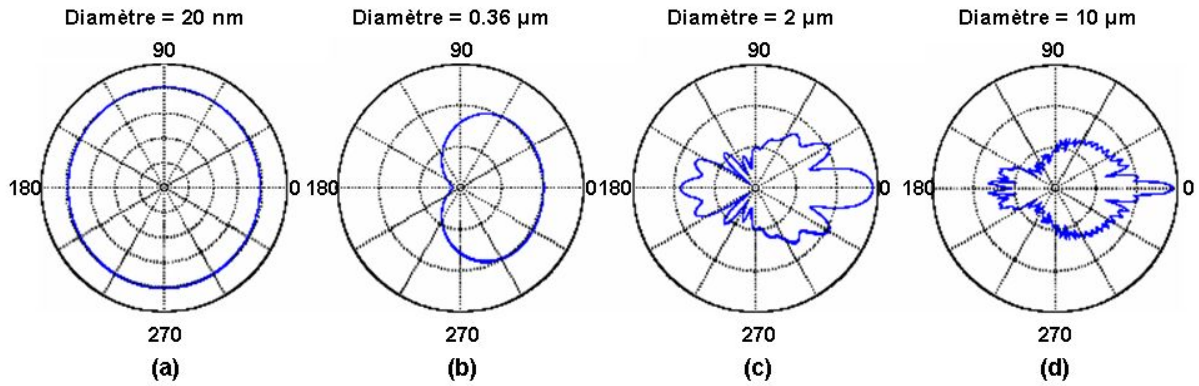


FIG. 4.5 – Indicatrices d'intensité de quatre particules sphériques, de diamètre respectif 20 nm (a), 0,36 μm (b), 2 μm (c), et 10 μm (d), calculées numériquement d'après la théorie de Mie. L'indice du milieu est de 1, celui de la sphère de 1,5. La longueur d'onde vaut 800 nm. Dans le cas (a), le rayon de la particule est très inférieur à la longueur d'onde optique : cela correspond au domaine de diffusion de Rayleigh, pour lequel la diffusion est isotrope. Plus on approche le cas (d), plus le diamètre de la particule devient plus importante par rapport à la longueur d'onde, ce qui correspond au domaine de diffusion de Mie, qui est plus orientée vers l'avant [39].

Ces trois régimes apparaissent clairement sur la courbe d'évolution du coefficient de diffusion par des particules sphériques en fonction du paramètre de la longueur d'onde réduite $1/x$ (équation 4.3). L'allure de cette courbe est représentée sur la figure 4.6. Quand cette longueur d'onde réduite augmente, la rayon des particules diminue et on voit clairement d'abord le régime de Mie, puis un maximum de diffusion pour un rayon égal la longueur d'onde, et enfin la décroissance rapide caractéristique de la diffusion Rayleigh.

D'ailleurs, on peut définir le facteur d'anisotropie g comme la moyenne du cosinus de l'angle de diffusion θ [40] :

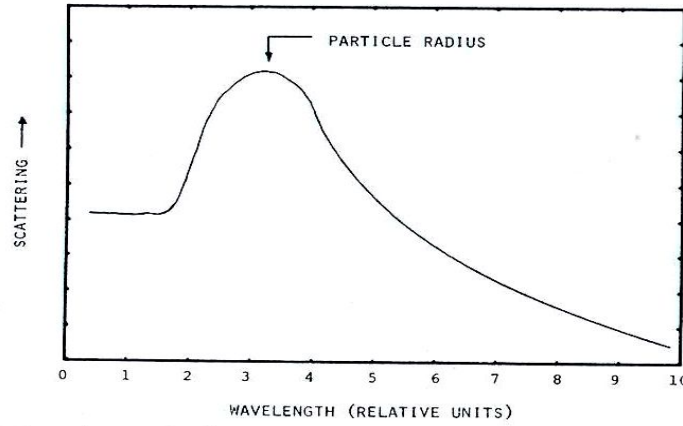


FIG. 4.6 – Allure de la dépendance spatiale du coefficient de diffusion en fonction de la longueur d'onde réduite [37].

$$g = \langle \cos \theta \rangle \quad (4.5)$$

$g = 1$ pour une diffusion totalement orientée vers l'avant, tandis que $g = 0$ lors d'une diffusion isotrope.

A partir de cela, on peut définir le coefficient de diffusion réduit [40][41] :

$$\mu'_s = (1 - g)\mu_s \quad (4.6)$$

Tous ces coefficients, décrivent le parcours des photons dans les tissus. Par conséquent, à partir de ceux-ci nous pouvons définir plus particulièrement :

- Le libre parcours moyen de diffusion :

$$\ell_s = \frac{1}{\mu_s} \quad (4.7)$$

- Le libre parcours moyen de transport, qui correspond au changement de direction dans la propagation des photons [40] :

$$\ell'_s = \frac{1}{\mu'_s} \quad (4.8)$$

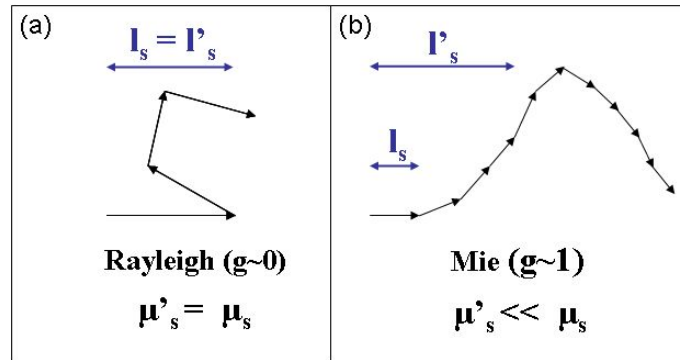


FIG. 4.7 – Schéma de la diffusion des photons dans le cas du régime de Rayleigh (a) et dans le cas du régime de Mie (b)

Sur la figure 4.7 nous représentons schématiquement le parcours des photons lorsque la diffusion relève respectivement du régime de Rayleigh (a), ou du régime de Mie (b). Effectivement,

pour des particules de petite taille par rapport à la longueur d'onde, vu qu'elles sont caractérisées par une diffusion isotrope (g très faible), le libre parcours moyen entre deux interactions est pratiquement égal au libre parcours moyen de transport, ce qui correspond à un changement de direction à chaque interaction. En revanche, dans le cas des particules de taille supérieure à la longueur d'onde, pour lesquelles la diffusion est très orientée vers l'avant (g proche à 1), le changement de direction à la propagation des photons après interaction a lieu en petits angles, ce qui résulte à un libre parcours moyen de transport bien supérieur au libre parcours moyen entre deux interactions.

Dans la peau, compte tenu de la largeur de la distribution de taille des diffuseurs, tous les régimes de diffusion peuvent avoir lieu simultanément. Il faut cependant garder présent à l'esprit que les caractéristiques observées dépendent fortement des conditions d'observation. En particulier, le fait que la diffusion Rayleigh soit isotrope alors que la diffusion de Mie a lieu préférentiellement vers l'avant privilégie la contribution des grosses particules dans la lumière transmise à travers l'échantillon diffusant, alors que c'est la contribution Rayleigh qui sera privilégiée dans la lumière rétrodiffusée [4].

Atténuation

L'ensemble de phénomènes d'absorption et diffusion constituent l'atténuation de la lumière dans son parcours. Pour l'atténuation de la lumière existe également le même formalisme. Ainsi, un rayonnement collimaté (laser) qui traverse un tissu d'épaisseur L est atténué selon la loi exponentielle de Beer-Lambert [40] :

$$I(d) = (1 - R_F) \cdot I_0 \cdot e^{-\mu_t \cdot L} \quad (4.9)$$

où R_F est le coefficient de réflexion de Fresnel, μ_t est le coefficient d'atténuation exprimé le plus souvent en cm^{-1} . Vu que l'atténuation de la lumière a lieu au moyen de deux processus, l'absorption et la diffusion, le coefficient d'atténuation est égale au somme des coefficients de deux autres processus [40] :

$$\mu_t = \mu_\alpha + \mu_s \quad (4.10)$$

Ainsi, le libre parcours moyen entre deux interactions est défini comme [40] :

$$\ell_t = \frac{1}{\mu_t} = \frac{1}{\mu_s + \mu_\alpha} \quad (4.11)$$

Afin de caractériser la relation entre les propriétés de diffusion et absorption du matériau on introduit le paramètre d'albédo, défini comme :

$$\Lambda = \frac{\mu_s}{\mu_t} \quad (4.12)$$

A partir de la théorie de diffusion, pour un milieu infini, homogène et turbulent, on peut encore définir le coefficient effectif d'atténuation :

$$\mu_{eff} = (3\mu_\alpha(\mu_\alpha + \mu_s'))^{1/2} \quad (4.13)$$

et le libre parcours moyen correspondant :

$$\ell_{eff} = \frac{1}{\mu_{eff}} \quad (4.14)$$

Optique du stratum corneum et de l'épiderme

La transmission à travers le stratum corneum et l'épiderme dépend pratiquement de l'absorption des molécules comme les acides nucléiques (ADN), les acides aminés aromatiques¹ tryptophane et tyrosine, de l'acide urocanique et de la mélanine. Tous ces chromophores absorbent essentiellement dans l'ultra-violet. Les variations de leur concentration, distribution spatiale et quantité globale déterminent les variations dans les spectres de transmission de l'épiderme des individus.

Dans la partie visible du spectre, la mélanine est essentiellement le seul pigment qui affecte la transmission de l'épiderme humain normal. L'absorption de la mélanine augmente de manière constante vers les longueurs d'onde les plus courtes dans la bande spectrale de 250 à 1200 nm (figure 4.10).

Optique du derme

Des études sur le transfert de la radiation par le derme ont mis en évidence le comportement typique d'un milieu multidiffusant : plus le derme est épais, plus la transmission diminue et devient diffuse. Par ailleurs, à épaisseur de derme donnée, la transmission (diffuse) augmente avec la longueur d'onde dans la région comprise entre l'ultraviolet et le proche infrarouge (figure 4.8), ce qui correspond à une diminution du coefficient de diffusion comme attendu en régime Rayleigh et intermédiaire, comme indiqué sur la figure 4.9. Les faisceaux de collagène jouent probablement un rôle important dans cette diffusion.

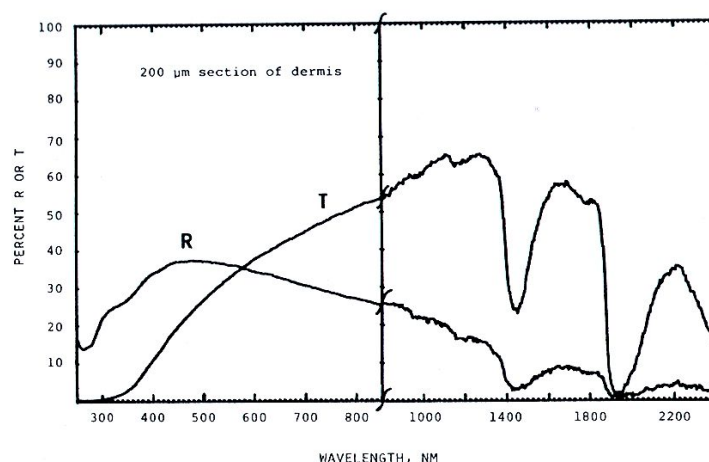


FIG. 4.8 – Retrodiffusion (R) et transmission (T) spectrales d'une section de 200 μm d'épaisseur de derme humain [37].

Quant au coefficient d'absorption, il reste largement inférieur au coefficient de diffusion dans le visible et le proche infrarouge jusqu'à vers 1,5 μm , où apparaissent les premières bandes d'absorption de l'eau. Le graphe 4.9 ne tient pas compte de l'absorption dans le rouge de la méthémoglobine, qui est effectivement présente dans le sang mais représente moins de 1 % de la quantité globale d'hémoglobine.

Examinons un peu plus en détail les propriétés d'absorption de la peau. In vivo, les principaux pigments absorbant dans le visible sont l'hémoglobine, l'oxyhémoglobine, le bêta-carotène et la bilirubine. Leurs spectres d'absorption apparaissent sur la figure 4.10. Toutes les formes d'hémoglobine sont des pigments intravasculaires, mais la bilirubine peut être soit intravasculaire, soit extravasculaire. Le bêta-carotène est extrêmement lipophile et par conséquent il est

¹Ces tissus sont aussi auto-fluorescents, essentiellement en raison de la présence des acides aminés aromatiques et éventuellement de la mélanine

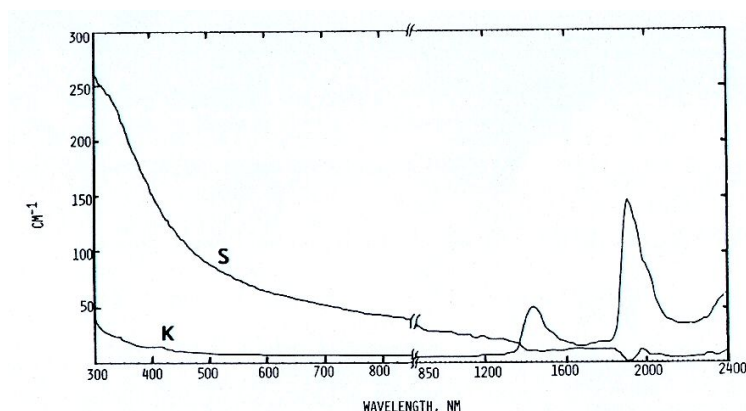


FIG. 4.9 – Coefficients de diffusion (S) et d'absorption (K) pour la peau humaine in vitro [37].

concentré dans la graisse sous-cutanée, les lipides du derme et à un certain degré dans le stratum corneum.

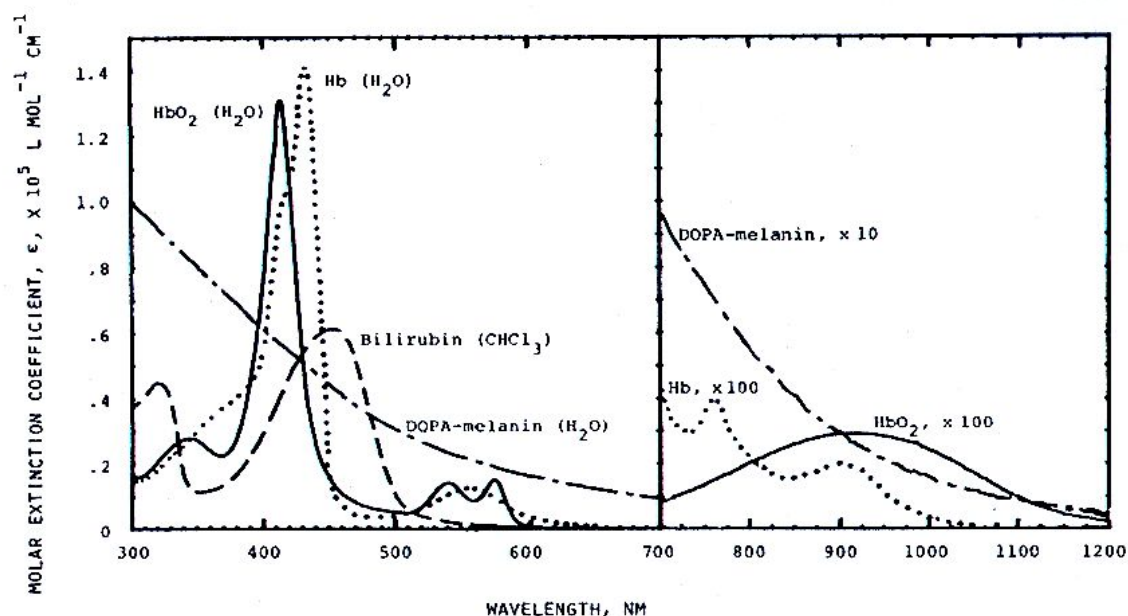


FIG. 4.10 – Spectres d'absorption des principaux pigments présents dans la peau humaine : hémoglobine (Hb), oxyhémoglobine (HbO_2), bilirubine et DOPA-mélanine. Les parenthèses indiquent le solvant. Le spectre présenté pour DOPA-mélanine correspond à l'absorption à une échelle de 0 à 1,5 d'une solution aqueuse de concentration de 1,5 mg %. Le spectre de beta-carotène n'est pas présenté dans ce graphe, car il présente une large bande d'absorption, qualitativement similaire à celle de la bilirubine dans la région de 400 à 500 nm du spectre, avec deux maxima à 466 et 497 nm, diluée dans tri-chloro-méthane ($CHCl_3$). Noter le changement d'échelle dans le proche infra-rouge [37].

La répartition des différents pigments en fonction de la profondeur détermine la distribution spectrale du rayonnement qui atteint une couche donnée de la peau. Par exemple, puisque la lumière bleue du spectre visible correspond notamment à la bande d'absorption du bêta-carotène, elle est pratiquement absente à des profondeurs de l'ordre de 1 – 4 mm, ce qui correspond à la limite supérieure du tissu graisseux sous-cutané. De même, la stratification des vaisseaux sanguins dans la peau, de capillaires très petits, jusqu'aux veinules, artérioles et aux vaisseaux de grandes dimensions dans des profondeurs élevées, influence l'absorption de la lumière par

le sang cutané. Seulement les vaisseaux superficiels (capillaires et le réseau des veines) sont exposés significativement au rayonnement bleu ou ultra-violet. Ces effets peuvent être pris en compte quantitativement par des modèles multicouches comme celui développé par Stamnes *et al.* pour la simulation de la propagation de la lumière dans l'atmosphère et l'océan par résolution de l'équation de transfert radiatif [42], qui a été ensuite mis en œuvre pour le diagnostic des mélanomes [43].

La diffusion et l'absorption de la lumière déterminent une "fenêtre optique" dans la région comprise entre 600 et 1300 nm¹ où la profondeur de pénétration de la lumière est suffisante pour permettre par exemple la recherche de tumeurs du sein d'une fraction de centimètre par des algorithmes adaptés à la propagation de la lumière en régime totalement diffusif [40]. En revanche, si on s'intéresse principalement aux couches superficielles (de la peau, mais aussi des épithéliums comme celui du col utérin qui fait l'objet du chapitre suivant) il peut être intéressant de faire varier la profondeur de pénétration autour de valeurs plus petites, en travaillant dans le visible. La gamme spectrale de notre polarimètre de Mueller (500 à 700 nm) paraît a priori tout à fait adaptée de ce point de vue.

Modèle de la peau

Il y a plusieurs études dans la littérature sur des mesures ou des simulations des propriétés optiques de la peau [44][45][46][47][48][49]. Nous avons choisi d'utiliser le modèle proposé par Yaroslavskii et Tuchin [40][50], afin d'estimer la profondeur de pénétration de la lumière dans la peau aux longueurs d'onde que nous utilisons, de 500 à 700 nm. Le modèle de Yaroslavskii *et al.* considère cinq couches de la peau, tel qui apparaît sur la figure 4.11 (a) avec les propriétés optiques résumés dans le tableau 4.2. Les résultats de l'utilisation de ce modèle pour la simulation du comportement d'un faisceau lumineux avec la méthode Monte-Carlo, pour un éclairage cohérent monochromatique de rayon de 1 mm à la surface de la peau, sont représentés sur la figure 4.11 (b) pour trois longueurs d'onde : 337, 577 et 633 nm.

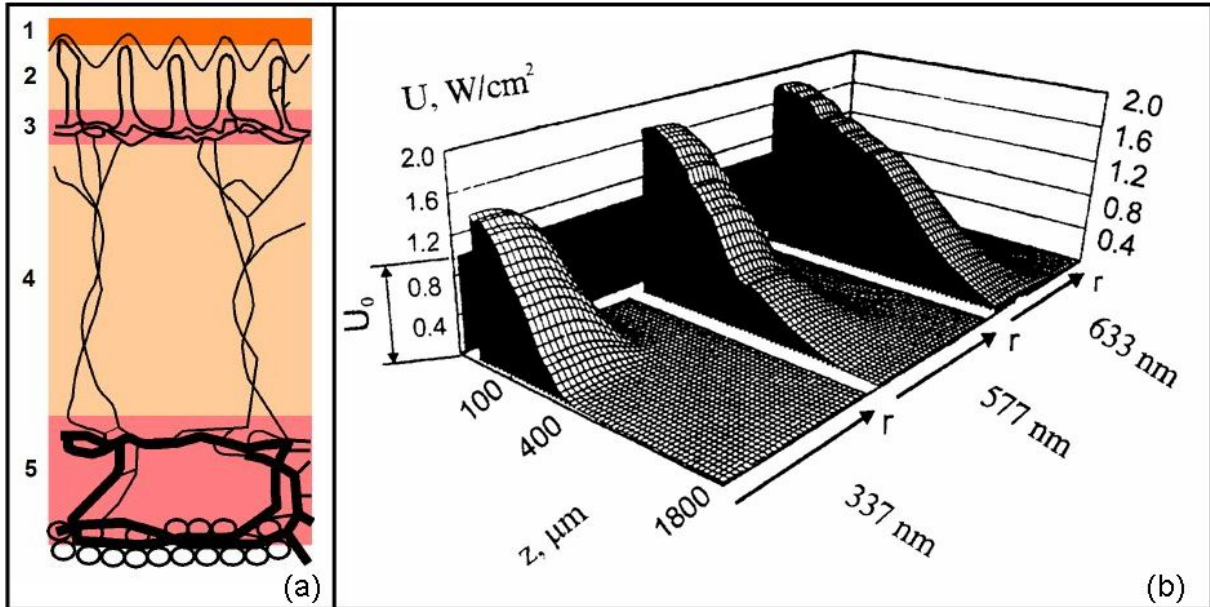


FIG. 4.11 – Modèle de la peau à cinq couches utilisée pour la simulation Monte-Carlo (a) et résultats pour trois longueurs d'onde : 337, 577 et 633 nm (b) [40].

Nous allons considérer pour notre estimation que seulement la lumière qui a été diffusée jusqu'à une profondeur telle que la diminution du flux lumineux atteigne au minimum le 10 %

¹Il y a une deuxième fenêtre optique de 1600 à 1850 nm, entre deux bandes d'absorption de l'eau.

du flux lumineux initial, a encore une probabilité d'être retro-diffusée et détectée à la surface de la peau. Nous constatons que pour la longueur d'onde de 633 nm, cette diminution de l'ordre de 10 % du flux lumineux initial, a lieu pour une profondeur de pénétration d'approximativement 1800 μm . Nous estimons alors, qu'à cette longueur d'onde, la lumière rétro-diffusée provient d'une profondeur inférieure ou, au mieux égale, à 1800 μm . De la même manière, pour une longueur d'onde de 577 nm, la profondeur de pénétration de la lumière est estimée à 1300 μm .

| N | Couche | d (μm) | λ (μm) | μ_a (cm^{-1}) | μ_s (cm^{-1}) | g | n |
|---|--|---------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------|-----|
| 1 | Epidermis | 100 | 337 | 32 | 165 | 0,72 | 1,5 |
| | | | 577 | 10,7 | 120 | 0,78 | 1,5 |
| | | | 633 | 4,3 | 107 | 0,79 | 1,5 |
| 2 | Dermis | 200 | 337 | 23 | 227 | 0,72 | 1,4 |
| | | | 577 | 3 | 205 | 0,78 | 1,4 |
| | | | 633 | 2,7 | 187 | 0,82 | 1,4 |
| 3 | Dermis with plexus superficialis | 200 | 337 | 40 | 246 | 0,72 | 1,4 |
| | | | 577 | 5,2 | 219 | 0,78 | 1,4 |
| | | | 633 | 3,3 | 192 | 0,82 | 1,4 |
| 4 | Dermis | 900 | 337 | 23 | 227 | 0,72 | 1,4 |
| | | | 577 | 3 | 205 | 0,78 | 1,4 |
| | | | 633 | 2,7 | 187 | 0,82 | 1,4 |
| 5 | Dermis with plexus profondus | 600 | 337 | 46 | 253 | 0,72 | 1,4 |
| | | | 577 | 6 | 225 | 0,78 | 1,4 |
| | | | 633 | 3,4 | 194 | 0,82 | 1,4 |

TAB. 4.2 – Les différentes couches de la peau [40].

A partir des données du tableau 4.2, nous avons calculé les autres coefficients de diffusion (equations 4.6, 4.13), ainsi que les libres parcours moyens respectifs (equations 4.7, 4.8, 4.14). Les résultats sont résumés dans le tableau 4.3.

Nous constatons dans un premier temps que pour chacune des couches, $\ell'_s > \ell_s$, ce qui indique que nous sommes plutôt dans un régime de diffusion de Mie. Ceci est également indiqué pour la valeur plutôt élevée de g . De plus, comme attendu, pour chaque couche, les libres parcours moyens ℓ_s , ℓ'_s , ℓ_{eff} sont d'autant plus élevés que la longueur d'onde augmente.

Par la suite, nous allons essayer d'effectuer une estimation de la profondeur de pénétration de la lumière dans la peau, à partir du libre parcours moyen de diffusion ℓ_{eff} , qui tient en compte à la fois les phénomènes de diffusion et d'absorption du faisceau incident. Plus concrètement, nous allons considérer que lorsque le libre parcours moyen de diffusion, ℓ_{eff} , est nettement supérieur à l'épaisseur de la couche étudiée, la lumière à la longueur d'onde donnée, va la traverser entièrement. Dans le cas contraire, soit $\ell_{eff} < d$, où d est la profondeur de la couche, la lumière n'atteindra qu'une partie de la couche en question.

Nous constatons que pour les trois couches supérieures du modèle, ℓ_{eff} pour les longueurs d'onde de 577 et 633 nm, reste toujours nettement supérieure à l'épaisseur de la couche étudiée. Ce n'est qu'à la profondeur de la quatrième couche, que ces deux coefficients (respectivement 481 et 583 μm) s'avèrent inférieurs à l'épaisseur de la couche (900 μm). Ainsi, en négligeant la diffusion sur les trois premières couches, la lumière atteindrait au mieux une profondeur de l'ordre de $100 + 200 + 200 + 481 = 981 \mu\text{m}$ pour une longueur d'onde de 577 nm et une profondeur de $100 + 200 + 200 + 583 = 1083 \mu\text{m}$ pour une longueur d'onde de 633 nm. On constate que

| N | Couche | d (μm) | λ (μm) | μ'_s (cm^{-1}) | μ_{eff} (cm^{-1}) | ℓ_s (μm) | ℓ'_s (μm) | ℓ_{eff} (μm) |
|---|--|------------------------|--------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | Epidermis | 100 | 337 | 46,2 | 86,6 | 60 | 216 | 115 |
| | | | 577 | 26,4 | 34,5 | 83 | 379 | 290 |
| | | | 633 | 22,5 | 18,6 | 93 | 445 | 538 |
| 2 | Dermis | 200 | 337 | 63,6 | 77,3 | 44 | 157 | 129 |
| | | | 577 | 45,1 | 20,8 | 49 | 222 | 481 |
| | | | 633 | 33,7 | 17,1 | 53 | 297 | 583 |
| 3 | Dermis with plexus superficialis | 200 | 337 | 68,9 | 114,3 | 41 | 145 | 87 |
| | | | 577 | 48,1 | 28,9 | 46 | 207 | 347 |
| | | | 633 | 34,6 | 19,4 | 52 | 289 | 517 |
| 4 | Dermis | 900 | 337 | 63,6 | 77,3 | 44 | 157 | 129 |
| | | | 577 | 45,1 | 20,8 | 49 | 222 | 481 |
| | | | 633 | 33,6 | 17,2 | 53 | 297 | 583 |
| 5 | Dermis with plexus profundus | 600 | 337 | 70,8 | 127 | 40 | 141 | 79 |
| | | | 577 | 49,5 | 31,6 | 44 | 202 | 316 |
| | | | 633 | 34,9 | 19,8 | 52 | 286 | 506 |

TAB. 4.3 – Les coefficients de diffusion, ainsi que les longueurs respectives de pénétration calculés à partir des données du tableau 4.2 pour le modèle de la peau.

la longueur de pénétration de la lumière dans un matériau complexe comme la peau, calculée à partir uniquement du coefficient effectif de la diffusion, serait sous-estimée par rapport aux résultats obtenus avec un modèle de type Monte-Carlo.

Pour notre cas, à partir des résultats de Yaroslavskii et Tuchin (même si nous travaillons en éclairage diffus), nous allons considérer que pour la longueur d'onde de 700 nm, la lumière détectée en retro-diffusion, aura traversé une épaisseur légèrement supérieure à 1,8 mm de la peau, ayant atteint les couches intermédiaires et profondes du derme, tandis qu'à 500 nm, la lumière aura parcouru un trajet inférieur à 1,3 mm, ayant atteint uniquement les couches supérieures et intermédiaires du derme.

4.2 Syndrome aigu d'irradiation : descriptif de la maladie

4.2.1 Les effets de l'irradiation sur l'organisme

Les effets aigus des rayonnements ionisants sur l'organisme sont essentiellement fonction de la radiosensibilité des tissus et des organes, elle-même dépendante du type d'organisation tissulaire et de la vitesse de renouvellement des cellules dans l'organe considéré. Les effets des radiations ionisantes sur les tissus sont, pour la plus grande part, dus à leurs effets sur les cellules souches. Néanmoins, quand le compartiment de cellules souches est détruit plus ou moins complètement, on observe une réduction progressive du compartiment des cellules différenciées, après un délai dépendant de la durée de leur renouvellement.

Ainsi, le système hématopoïétique, l'épithélium intestinal et le tissu cutané sont les zones les plus radiosensibles de l'organisme en raison de leur organisation en tissu hiérarchique avec une minorité de cellules souches à haut pouvoir prolifératif et donc très radiosensibles et une majorité de cellules matures peu ou pas proliférantes et plus radiorésistantes. Cette structure

hiérarchique où seules les cellules souches sont fortement radiosensibles conduit à un délai dans l'apparition des lésions radio-induites variable selon le taux de renouvellement des différents compartiments cellulaires et qui explique l'existence d'un temps de latence dans l'apparition des symptômes cliniques et biologiques de la phase critique.

A l'opposé, les organes non hiérarchiques à renouvellement plus lent, comme les poumons, les reins ou le foie, manifestent une plus grande radiorésistance et les dommages radio-induits apparaissant de façon plus tardive, au-delà des premiers mois après irradiation.

Bien que les cellules soient endommagées par le rayonnement, notamment en raison des cassures de l'ADN, elles ont des mécanismes de réparation. Quatre processus sont impliqués dans la restauration tissulaire : *la réparation des lésions sublétales*, *la redistribution des cellules survivantes*, *la repopulation* et *la réoxygénation*. Plus particulièrement, les effets de l'irradiation sur les cellules les plus radiosensibles de la peau sont les suivants [38] :

Les kératinocytes Les kératinocytes sont des cellules qui se trouvent, comme on a vu, dans l'épiderme. L'exposition au rayonnement entraîne dans un premier temps une accumulation des cassures des brins d'ADN, qui sont par la suite réparés. Il apparaît qu'après irradiation, il y a au niveau de la couche basale des cellules clonogéniques, mais également non-clonogéniques proliférantes. Un grand nombre de colonies apparaissent autour des follicules pileux et il est possible que cette source soit la voie principale de régénération de la peau. Effectivement, les cellules situées dans les follicules pileux seraient protégées par la profondeur du bulbe par rapport à celle de la basale, et par leur état quiescent, compte tenu de leur non participation au renouvellement cutané en régime normal. Ainsi, les potentialités de régénération sont fortes pour l'épiderme : après 20 Gy¹, alors qu'il ne reste qu'environ 1 cellule par cm², la réépithéliation est encore possible, mais la desquamation humide et l'ulcère sont fréquents, comme on verra par la suite. A 16-17 Gy aucune lésion clinique n'est visible, alors, qu'il reste 10-20 cellules survivantes par cm². Ce nombre est suffisant pour empêcher la desquamation en assurant par prolifération le recouvrement de 1 cm² de la peau.

Les fibroblastes Les fibroblastes se renouvelant peu dans le tissu conjonctif du derme, on observe une accumulation des lésions d'irradiation. En revanche, après une irradiation localisée, l'accumulation de nombreux fibroblastes et leur migration de l'extérieur vers l'intérieur de la zone irradiée a été remarquée, ce qui facilite l'épithéliation. En règle générale, les fibroblastes soumis à une stimulation (un processus de *cicatrisation* par exemple) deviennent hyperactifs, sécrétant notamment du collagène. Ainsi, le derme irradié répond comme l'épiderme, par un processus dynamique de multiplication-migration. La réparation du derme est fondamentale car elle conditionne la réparation de l'épiderme sus-jacent.

4.2.2 Syndrome cutané radio-induit

Le syndrome cutané radio-induit peut être divisé en deux étapes : un syndrome cutané d'irradiation aiguë et une fibro-atrophie cutanée tardive, décrites dans les paragraphes qui suivent. Une analogie avec les lésions des brûlures thermiques est donnée dans le tableau 4.4.

Syndrome cutané d'irradiation aiguë

Plus spécifiquement, les irradiations essentiellement localisées par des rayonnements gamma très pénétrants, qui est le cas de cette étude, tels ceux émis par le cobalt 60, le césium 137 ou l'iridium 192, si elles n'entraînent pas de risque vital, ont néanmoins pour effet une morbidité très

¹ 1 Gy est l'unité d'irradiation exprimée en énergie déposée dans une quantité de matière, égale à 1 Gy = 1 J/Kg.

| Degré de brûlure | Brûlure thermique | Brûlure radiologique |
|------------------------|--|---------------------------------------|
| 1 ^{er} degré | Limité à l'épiderme. Régénération des cellules épithéliales endommagées. | Erythème $D_{50}=6$ Gy |
| 2 ^{ème} degré | Endommagement de l'épiderme et du derme supérieur. Réépithélialisation possible. | Désquamation humide $D_{50}=20$ Gy |
| 3 ^{ème} degré | Endommagement de toute l'épaisseur de l'épiderme et du derme. Pas de régénération de l'épithélium. | Nécrose dermique $D_{50}=60$ Gy |

TAB. 4.4 – Définition des trois degrés des brûlures thermiques [51] et leur analogie avec les brûlures radiologiques [38]. D_{50} est la dose à partir de laquelle les symptômes sont visibles sur 50 % de patients.

importante en raison du développement progressif sur des mois, voire des années, d'un syndrome cutané radiologique. Ce syndrome, qui se caractérise par une destruction de la peau, des tissus sous-jacents et des muscles, peut s'exprimer sous la forme de brûlures dites "*radiologiques*", qui présentent des spécificités par rapport aux brûlures thermiques, ou sous la forme de *nécroses* plus ou moins profondes et étendues, extrêmement douloureuses, qui sont extensives en l'absence de traitement, et qui nécessitent souvent des traitements chirurgicaux répétés, à type d'exérèse et de greffes, avec une évolution locale parfois dramatique et riche en séquelles.

Le premier symptôme d'une *radiodermite aiguë* est une *inflammation* de la peau apparentée à une brûlure du premier degré. Le degré de gravité d'une radiodermite, c'est-à-dire son évolution ultérieure, dépend du type de rayonnement ionisant émetteur, de la dose d'irradiation délivrée, du volume irradié, de la zone anatomique, de la radiosensibilité intrinsèque et de l'état physiologique de la victime (facteurs de comorbidité) [36].

L'*érythème* consécutif à une exposition aux rayonnements se présente par vagues, séparées par des périodes de latence dont la durée est inversement proportionnelle à la dose (figure 4.12) [38] :

1. La *première phase* d'érythème apparaît immédiatement après l'irradiation et dure selon la dose, de quelques heures à quelques jours. Elle est caractérisée par des phénomènes inflammatoires et une congestion active.
2. La *deuxième phase* se développe après quelques jours ou quelques semaines et se caractérise par des phénomènes circulatoires de *congestion passive* et de *thrombose*, entraînant une ischémie. Ce second érythème semble mieux corrélé avec l'intensité des radiolésions.
3. Une *épidermolyse* s'observe ensuite, suivie par une escarre (*nécrose cutanée*) et un *ulcère* plus ou moins profond. Ce dernier pourra, si la dose n'est pas trop élevée, cicatriser en cinq à six mois, en laissant une masse de *tissu fibreux* plus ou moins importante selon la dose délivrée.

Plus en détails, on peut observer successivement [36] :

Dépilation La dépilation a lieu pour des doses faibles de 5-6 Gy, mais elle apparaît que le 14-18ème jour. Elle est totale après 4 semaines, et la restauration éventuelle des follicules pileux est possible en 2 à 3 mois pour des doses uniques inférieures à 6-7 Gy.

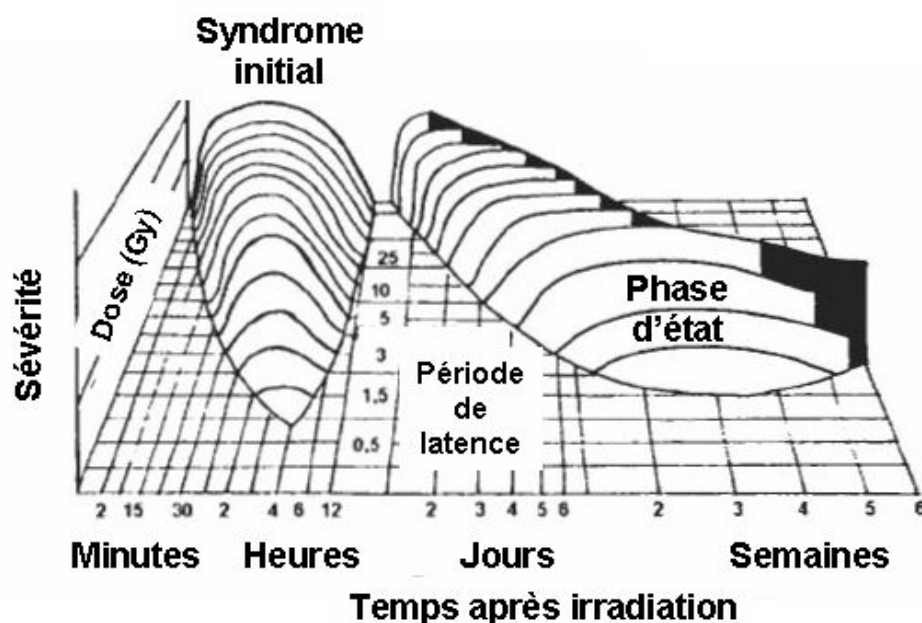


FIG. 4.12 – Phases [36].

Erythème précoce Il apparaît en 24 heures, causé par la dilatation des capillaires du derme et un œdème interstitiel, après une irradiation au moins égale à 15 Gy et présage d'une évolution rapide et sévère.

Erythème secondaire Il est associé à une thrombose des artérioles, et se développe habituellement entre la troisième et quatrième semaine après une dose unique de 5-6 Gy.

Desquamation sèche Elle apparaît pour des doses uniques de 10-15 Gy [38] et est caractérisée par un épaississement de la peau. La perte des kératinocytes de l'épiderme est partiellement compensée, présentant ainsi un aspect rugueux, sec et pigmenté. Dans certains cas, l'épiderme ancien se détache en laissant apparaître un nouvel épiderme sous-jacent érythémateux, mais intact. La sévérité et la chronologie de ce processus sont variables et dépendent de la localisation, de la vitesse de renouvellement de la couche basale de l'épiderme (environ 3 semaines), et de l'étendue de la desquamation. Par ailleurs, le délai de cicatrisation dépend, outre de l'étendue, du nombre de cellules survivantes et de la vitesse de repopulation.

Oedème sous-cutané Il intéresse généralement le territoire irradié tuméfié, sans permettre d'en définir les contours avec précision, car il s'étend parfois au-delà. Sa chronologie d'apparition est variable, et un œdème précoce dans les premiers jours présage généralement d'une évolution rapide des lésions. La durée d'une poussée œdémateuse est également très variable, pouvant attendre plusieurs semaines lorsqu'elle précède et/ou accompagne une évolution prénécrotique.

Radioépithéliite exsudative ou desquamation humide Elle apparaît pour des doses uniques de 15 à 20 Gy. Trois à quatre semaines après un érythème, elle correspond à une perte d'épiderme suffisante pour permettre une exsudation de sérum et la formation d'une croûte. L'aspect histopathologique et les caractéristiques cellulaires sont assez proches de ceux d'un brûlure du second degré, et la radionécrose est alors souvent une conséquence de la déshydratation et de l'infection.

Ulcération Elle apparaît pendant et au décours de l'irradiation, qui peut évoluer après quelques mois en une zone d'*atrophie* et/ou *fibrose* sous-cutanée, associée ou non à une *dépilation* définitive, une *pigmentation* et/ou des *télangiectasies*.

Radionécrose La radionécrose du tissu cutané, mais aussi musculaire et osseux sous-jacents, se développe dans la plupart des irradiation accidentelles. Après une exposition aux γ délivrant aux tissus sous-cutanés des doses supérieures à 20-30 Gy dans les tissus mous, une *radionécrose cutané-musculaire* se forme, sur lequel la *réépithélialisation périphérique* ne peut pas se développer. La nécrose des tissus superficiels, dont le délai d'apparition est de quelques semaines à quelques mois, débute généralement par une *ulcération* dont le fond est jaunâtre et recouvert d'un exsudat fibrineux, qui peut se modifier dans le temps et devenir noirâtre avec assèchement. Elle peut évoluer d'une seule tenue en quelques mois, ou en plusieurs temps échelonnés sur plusieurs années. Lorsque la zone lésée est très localisée, le volume de tissu nécrosé peut s'éliminer par détersion en laissant apparaître un tissu de granulation qui sera progressivement recouvert par le revêtement cutané. Dans un contexte de doses concentriques décroissantes, à partir du point d'application de la source ou du faisceau d'irradiation, la nécrose tissulaire obtenue peut s'étendre à partir de doses au moins égales à 20-30 Gy, à des tissus cutanés et sous-cutanés adjacents exposés à des doses très inférieures.

En cas de très fortes doses d'irradiation, cette symptomatologie cutanée est amplifiée et raccourcie dans le temps, et s'apparente à des brûlures électriques ou thermiques de deuxième ou troisième degré, avec une pâleur cutanée plutôt qu'un érythème précoce, suivie d'une destruction totale de l'épiderme avec perte d'adhésivité associée à une occlusion progressive des vaisseaux sanguins cutanés.

Fibro-atrophie cutanée tardive

Les lésions précoces apparaissent dans les tissus qui prolifèrent rapidement et les lésions tardives dans ceux qui se renouvellent lentement [38]. Les effets tardifs sur la peau peuvent apparaître sans réaction aiguë précoce, après des semaines, des mois ou des années. Pour une part le délai d'apparition dépend de la dose. Les lésions vasculaires jouent un rôle primordial dans la pathogénie de ces lésions et, suivant l'intensité de la dose, différents processus pathologiques vont se développer dans la peau et les tissus sous-jacents, que nous pouvons distinguer en trois phases, décrites par la suite.

Phase de constitution La première phase se déroule pendant les quelques mois suivant l'irradiation. Elle peut être asymptomatique ou se traduire par des signes d'inflammation chronique localisée : oedème cutané et sous-cutané, rougeur et douleur. L'inflammation est classiquement caractérisée par une perméabilité vasculaire accrue qui associe extravasation de protéines sériques et formation d'oedème. Les fragments de dégradation du collagène et la fibronectine en particulier, attirent localement les cellules conjonctives, épithéliales et sanguines. La destruction ultérieure des cellules endothéliales et la thrombose vasculaire associée conduisent à la nécrose des microvaisseaux avec ischémie locale. La perte de cette barrière endothéliale naturelle a pour conséquence directe l'exposition des cellules conjonctives à de stimuli auxquels elles sont normalement étrangères, et pourrait en particulier initialiser l'activation fibroblastique.

Phase de séquelle organisée Pendant cette seconde phase, qui se déroule durant les premières années après l'irradiation, les signes inflammatoires locaux ont disparu. Le derme et les tissus sous-cutanés sont épaissis et indurés. L'épiderme sus-jacent est aminci, rendant visibles

sous forme de télangiectasies les capillaires dermiques, qui se sont élargis et sont devenus irréguliers en raison de la disparition des touffes conjonctives du derme papillaire. A l'histologie, le tissu fibreux est constitué de cellules de la réaction inflammatoire et de fibroblastes.

Phase de séquelle tardive Pendant cette troisième phase, qui se développe plusieurs années après une irradiation, la tunefaction fait place à une fibro-atrophie sous-cutanée, après destruction graduelle du tissu normal associée à une rétraction éventuellement douloureuse des tissus dont la consistance devient dure voire pierreuse. La peau prend alors un aspect blanc dépoli ou hyperpigmenté. A ces séquelles superficielles, peuvent être associées des lésions radio-induites des tissus sous-jacents (os, muscles) au retentissement en aval de compressions ou de rétraction locales (œdème veineux ou lymphatique, limitation douloureuse d'une articulation), ainsi que des complications locales (ulcération spontanée ou provoquée par un traumatisme, radionécrose tardive), surinfection, retard de cicatrisation. A l'histologie, ces tissus sont le siège d'une sclérose peu vascularisée et pauvre en fibroblastes. Dans le tissu fibreux constitué et remodelé, la matrice augmente sa densité et sa stabilité. La zone irradiée cicatrisée reste cependant toujours fragile, soumise à des poussées inflammatoires tardives réactivées à la suite d'un traumatisme quelconque.

Si chez l'homme, les divers cas décrits sont hétérogènes, ceux décrits chez l'animal, principalement chez le porc, sont suffisamment homogènes et reproductibles pour servir de modélisation et de validation des concepts [36]. Nous allons présenter par la suite une série d'études de ce type.

4.3 Expérimentation pré-clinique

Le porc domestique semble le seul animal d'une utilisation facile en expérimentation sur la cicatrisation des lésions cutanées (thermiques ou radiologiques) car sa peau présente des caractéristiques morphologiques et fonctionnelles comparables à celles de l'homme [38] [52]. Déjà, le nombre de couches cellulaires chez le porc est tout à fait comparable à celui observé chez l'homme. L'épaisseur de l'épiderme du porc est comprise entre 30 et 100 μm , et l'épaisseur du derme entre 1 et 4 mm, donc très proche de l'homme. Il y en a toutefois quelques différences : le stratum corneum est plus épais, le stratum granulosum plus mince et le stratum lucidum parfois manquant chez le porc. En plus, les mélanocytes sont rares, de grande taille et rameux, et ils sont présents dans l'épiderme et non dans le derme. Il y a pourtant des similitudes dans l'architecture de la vascularisation et la densité des follicules pileux¹, la structure de la trame du tissu collagénique et le taux élevé de fibres élastiques dans le derme. Encore, la vitesse de renouvellement de l'épiderme est similaire. Le flux sanguin cutané est le même². La composition du film lipidique de la surface cutanée est comparable, même s'il y a un important dépôt de graisse dans le tissu sous-cutané, notamment chez le porc adulte.

D'autres différences sur la dépendance de la radiosensibilité du sexe ou de l'âge ont été constatées. Chez l'homme, par exemple, la radiosensibilité de la peau semble indépendante du sexe (même s'il y en a certains qui suggèrent que les femmes sont un peu plus radiosensibles), mais chez le porc il existe une différence notable entre la radiosensibilité du mâle et celle de la femelle ou du mâle castré. En revanche, chez le porc, un effet particulier de l'âge sur la

¹La densité des follicules pileux chez l'homme comme chez le porc est de l'ordre de quelques dizaines par millimètre carré, en opposition de 1000 par millimètre carré chez d'autres animaux. La base des follicules est habituellement située au milieu de l'épaisseur du derme (0,4-1 mm). Pourtant, chez le porc il arrive fréquemment que la partie la plus profonde du follicule s'enfonce dans l'hypoderme [38] [52].

²Le flux sanguin cutané est d'environ 3 ml/min/100 gr au repos chez l'homme et au niveau de la cuisse et du flanc chez le porc [38].

réponse du tissu dermo-vasculaire n'était pas observé, alors que chez l'homme les enfants sont plus radiosensibles que les adultes (mais leur peau se restaure plus rapidement) [38].

Sur le graphe 4.13 nous présentons l'évolution clinique des lésions cutanées après irradiation aiguë localisée des doses uniques de ^{192}Ir chez le porc (de race "Large White") [53]. D'après cette étude chez le porc, il n'y a pas d'effets tardifs en dessous de 20 Gy. Quand irradié localement, une extension de la nécrose cutanée et sous-cutanée a été observée jusqu'à un seuil variant selon la zone anatomique et le type du rayonnement : de 16 à 22 Gy avec une exposition au rayonnement γ du ^{192}Ir . La nécrose et la fibrose musculaire sont observées alors jusqu'à des doses en profondeur de 20 et 15 Gy respectivement.

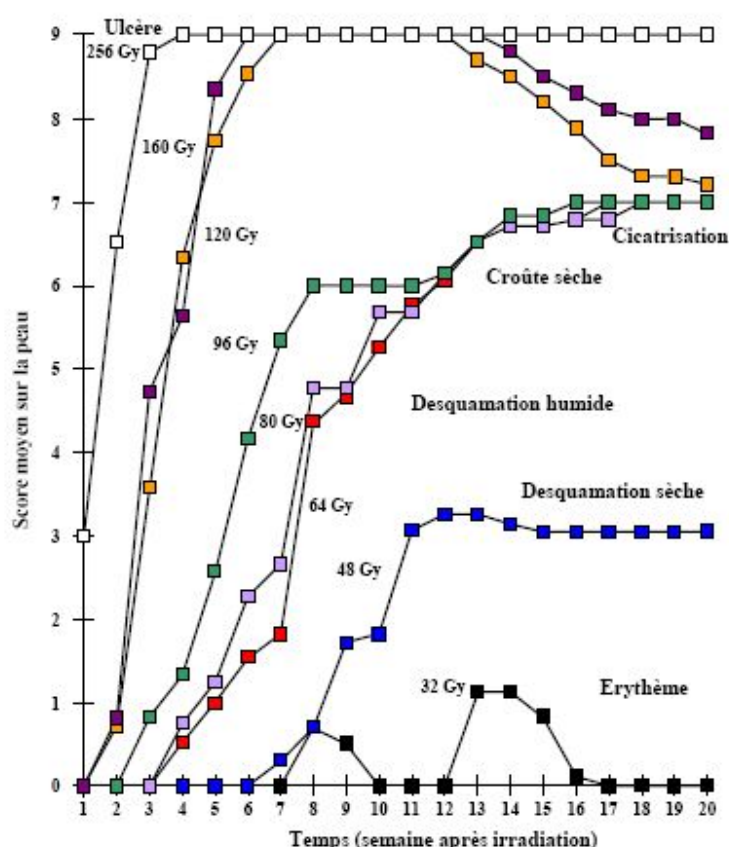


FIG. 4.13 – Evolution clinique des lésions cutanées après irradiation aiguë localisée des doses uniques de ^{192}Ir chez le porc (de race Grand Blanc "Large White"). Doses en Gy à la surface. Score : (0) pas de réaction; (1) érythème léger; (2) érythème intense; (3) érythème intense avec oedème; (4) congestion passive; (5) desquamation humide; (6) exsudation et croûte; (7) nécrose dermique; (8) ulcère cutané-musculaire [38][53].

D'autres études ont montré que dans le tissu fibreux qui se développe entre 6 et 18 mois après une irradiation cutaneo-musculaire chez le porc, la quantité du collagène est 10 fois plus élevée que dans le tissu conjonctif normal [54]. Quant à la profondeur du tissu fibrotique, aucune modification microscopique n'était observée pour des doses de 16, 32 ou 48 Gy à la surface. L'épaisseur du tissu fibrotique augmente avec la dose pour des doses entre 64 et 256 Gy [53].

Il y a effectivement des variations entre les différentes études liées au rayonnement utilisé, à la topographie sur l'animal, à sa race et au sexe. Même si nous ne pouvons pas comparer de manière quantitative les résultats obtenus pendant les différentes études, nous y retrouvons les mêmes tendances concernant l'évolution des lésions radiologiques.

4.4 Techniques existantes pour le diagnostic du syndrome cutané aigu

La gestion médicale d'une irradiation accidentelle nécessite de disposer d'informations spécifiques pour une évaluation aussi précise que possible des dommages radio-induits afin d'asseoir la stratégie thérapeutique la plus appropriée. Ces informations concernent d'une part la dose reçue à l'organisme et d'autre part, des éléments de diagnostic et de pronostic sur l'évolution des lésions radio-induites. Dans une première étape, l'estimation de la dose peut être considérée comme un élément important car elle permet de s'appuyer sur les notions classiques du syndrome d'irradiation.

Le problème d'un point de vue clinique (et à la fois plus pragmatique) peut être abordé comme suit :

- Comment distinguer un tissu sain d'un tissu irradié ?
- Quelle est l'étendue et l'intensité de l'atteinte radiologique, c'est-à-dire quelle est la répartition de la dose dans les tissus superficiels et profonds ?
- Quel est le volume des tissus qui vont nécroser et qui devront tôt ou tard être retirés ?

Les méthodes utilisées pour le diagnostic du syndrome cutané radio-induit selon le type des modifications physiopathologiques au niveau de la peau et des tissus sous-jacents sont regroupés dans le tableau 4.5.

| Evolution clinique | Modifications physiopathologiques | Méthodes biophysiques |
|---------------------------------------|---|---|
| Erythème Hyperémie Hyperthermie | Augmentation de la perméabilité capillaire et du flux sanguin | Thermographie Scintigraphie vasculaire |
| Oedème | Extravasation plasmatique | Scanner X Imagerie RMN |
| Congestion passive Thrombose | Diminution du flux sanguin | Thermographie |
| Ischémie | Anoxie tissulaire | Scintigraphie vasculaire Oxymétrie cutanée |
| Nécrose | Destruction cellulaire | Marqueurs biochimiques sanguins |
| Fibrose | Modifications des fibroblastes Dépôt excessif de matrice extracellulaire | Scintigraphie cutanée |

TAB. 4.5 – Méthodes utilisées au diagnostic du syndrome cutané d'irradiation aiguë [38].

Parmi les nouvelles techniques appliquées au diagnostic du syndrome cutané radio-induit, nous citons [36][38] :

- L'IRM [55] et la tomographie X, qui visualisent l'intensité et l'étendue de l'œdème précoce.
- La gamma-scintigraphie et la thermographie, qui visualisent les processus inflammatoires locaux.

- Le laser Doppler cutané [56][57] et la capillaroscopie [58] qui permettent d'objectiver une perte de réactivité microvasculaire sous-épidermique, mais aussi le microrelief cutané et l'IRM cutané à haute résolution.

Cependant, la dosimétrie, qu'elle soit physique ou biologique, ne permet d'approcher l'atteinte due aux rayonnements ionisants que sous un angle global. Bien qu'il soit possible d'estimer dans certaines circonstances un volume corporel irradié associé à une dose aux organes, cette dose n'apporte qu'une information indirecte et stéréotypée de la gravité de l'atteinte fondée sur le concept général reliant la dose aux syndromes d'irradiation. Or, différentes caractéristiques physiopathologies mal connues, mais incontestablement liées à l'individu (radiosensibilité, effet de voisinage, radioadaptation) font que l'évolution de la pathologie radio-induite ne sera pas identique d'un individu à l'autre. Il s'avère donc nécessaire de rechercher d'autres types d'indicateurs, permettant de prendre en compte cette spécificité individuelle. En effet, seule une approche multiparamétrique fondée sur la mise en œuvre et la convergence de plusieurs approches complémentaires permettra de répondre efficacement au défi que constitue la prise en charge thérapeutique des victimes d'une irradiation accidentelle.

4.5 La polarimétrie pour le diagnostic du syndrome cutané radio-induit

Nous avons déjà vu la polarimétrie utilisée en dermatologie, où les tissus cancéreux apparaissent moins dépolarisants, les lésions de lupus ont l'axe rapide de retard orienté différemment [2] et les peaux pigmentées dépolarisent moins que les tissus sains [1]. Selon les auteurs, la diminution de la dépolarisation aux tissus pathologiques est due aux structures sous-cutanées qui empêchent la lumière de rentrer plus profondément dans la peau, tandis que la modification du retard est due aux structures biréfringentes, probablement le collagène.

Au diagnostic des brûlures, thermiques cette fois-ci, la polarimétrie est, le plus souvent, couplée avec l'OCT, afin de déterminer la profondeur des brûlures par rapport à la biréfringence des tissus aux différents profondeurs, qui dépend de la quantité et la forme du collagène [51]. Il apparaît que les contrastes polarimétriques sont plus sensibles à la dégénération thermique des tissus biologiques que les contrastes basés sur des mesures d'amplitude [59], comme cela apparaît sur la figure 4.14.

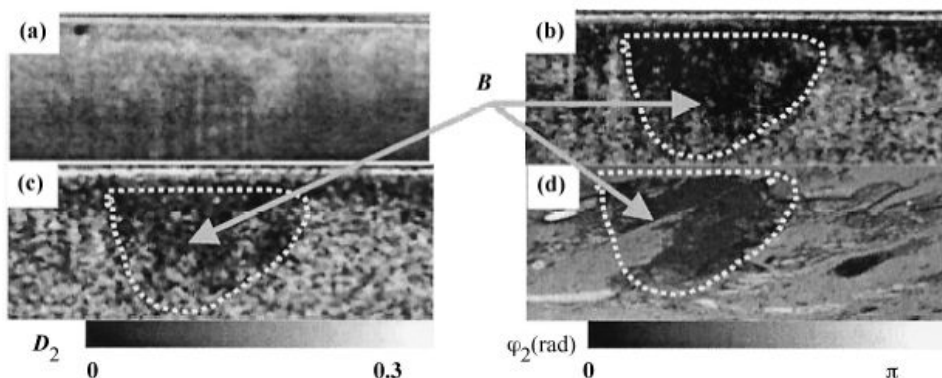


FIG. 4.14 – Images en intensité M_{11} en échelle logarithmique (a), de retard (b), de diatténuation (c) et polarisée histologique (d) d'une pièce ex-vivo de peau de rat avec une lésion thermique. La hauteur de chaque image est de $750 \mu\text{m}$. Les échelles en noir et blanc sont pour le retard (ϕ_2) et la diatténuation (D_2). B=zone brûlée [59].

C'est notamment le retard qui a une différence significative entre un tissu sain et un tissu brûlé. Les zones biréfringentes de la peau correspondent à la couche superficielle de kératine et

au derme papillaire riche en collagène. La différence du retard entre une région brûlée thermiquement et une région saine en fonction de la profondeur de la peau apparaissent sur la figure 4.15. Nous constatons que déjà dès les premières μm à la surface de l'épiderme, il y a une différence significative entre le retard d'une zone saine et celui d'une zone brûlée.

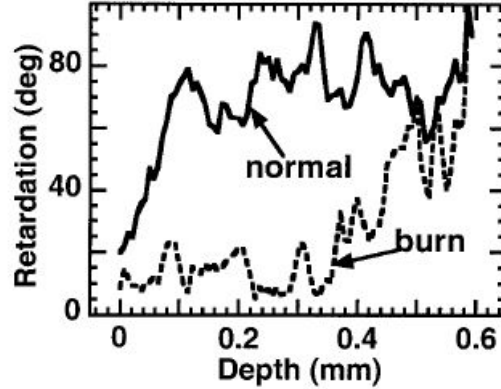


FIG. 4.15 – Moyenne de dix profils de retard respectivement près du centre de la région brûlée (thermiquement) et sur la zone saine à droite [59].

L'OCT couplé avec la polarimétrie a également été utilisée pour étudier la cicatrisation des lésions, qui est également un processus impliquant la synthèse et remodelage des fibres de collagène, après application des différents médicaments [60]. Dans ce cas aussi, la mesure est basée sur la biréfringence de la peau, qui dépend de la quantité du collagène déposé pendant le processus de régénération.

Une première évaluation des possibilités de la polarimétrie pour le diagnostic des brûlures radiologiques a été menée par l'équipe de l'université de Bretagne occidentale sur le même modèle animal que nous, avec un polarimètre spectroscopique non imageur et des biopsies [61]. La tendance générale mise en évidence est une diminution de la dépolarisation avec la dose. De plus, ils ont défini un autre indice appelé taux de mémoire, comme P_C/P_L en intégrant le degré de polarisation linéaire P_L sur l'angle azimutal :

$$P_L = \frac{1}{\pi} \int_0^\pi P(\alpha, 0) d\alpha, \quad 0 \leq P_L \leq 1 \quad (4.15)$$

$$P_C = \frac{1}{2} \left(P\left(\alpha, \frac{\pi}{4}\right) + P\left(\alpha, -\frac{\pi}{4}\right) \right), \quad 0 \leq P_C \leq 1 \quad (4.16)$$

où P_C le degré de polarisation circulaire.

Dans un premier temps cet indice P_C/P_L a été considéré comme l'indicateur le plus fiable pour le diagnostic des brûlures radiologiques sur des mesures ponctuelles des échantillons de biopsies de peau de porc irradié ex-vivo [61]. Pourtant, une étude plus complète a démontré des tendances non monotones de cet indice en fonction de la dose, contrairement au degré de polarisation, qui diminue toujours avec la dose et semble alors plus robuste. [4].

4.6 Notre modèle expérimental

L'animal choisi pour cette étude coordonnée par l'IRSN de Fontenay-aux-Roses est le porc, dont la peau est le meilleur modèle biologique connu de la peau humaine. Les expériences ont lieu au Centre de Recherche du Service de Santé des Armées (CRSSA) à La Tronche, dans la banlieue de Grenoble.

Le modèle expérimental utilisé au CRSSA par Diane Agay et Yves Chancerelle comporte une irradiation localisée de la peau (5×10 cm) à l'aide d'une source de cobalt 60 (rayonnement γ , 0 à 60 Gy, 1 Gy/min) chez le mini-pig (souche Göttingen). L'irradiation s'effectue sous anesthésie. L'animal est couché sur le ventre et disposé de manière à ce que l'axe du faisceau d'irradiation soit perpendiculaire à la colonne vertébrale (figure 4.16). Un bloc de cire d'1 cm d'épaisseur est placé sur la zone de peau irradiée afin d'obtenir les conditions d'équilibre électronique au niveau de la peau et ainsi d'assurer une meilleure homogénéité de la dose en profondeur. Des dosimètres thermoluminescents constitués de poudre d'Alumine (Al_2O_3) sont incorporés dans l'épaisseur de la cire et permettent le contrôle de la dose délivrée à la peau. Ce protocole d'irradiation a été validé par une série de mesures sur un fantôme simplifié représentatif des principales caractéristiques du porc (épaisseur et hauteur du tronc, densité de la peau).

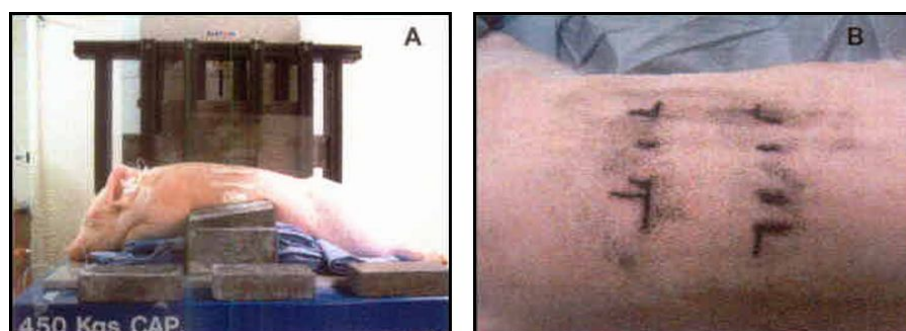


FIG. 4.16 – A. Source d'irradiation gamma B. Aspect de la zone irradiée juste après irradiation [62]. Les marques noires sont des tatouages matérialisant les bords de la zone irradiée.

Juste après l'exposition on ne voit aucun signe clinique particulier dans la zone irradiée. Un peu plus tard, une dépilation accompagnée d'un léger érythème passager a été observée de façon d'autant plus marquée que la dose d'irradiation est forte. Le délai d'apparition et la durée de l'érythème sont proportionnels à la dose. Vingt-quatre heures après l'irradiation, une légère réaction cutanée a été notée, elle se confirme au deuxième jour et disparaît à partir du troisième jour. Pour les doses d'irradiation de 10 et 15 Gy, six mois après irradiation un léger épaissement cutané avec un aspect de dépigmentation apparaît. La nécrose avec guérison spontanée des tissus cutanés est observée 140 jours après irradiation de l'animal à 40 Gy. A partir de 130 jours, un décollement par les bords, avec rétraction et cicatrisation progressive est noté. Cette évolution est illustrée sur la figure 4.17.



FIG. 4.17 – Evolution clinique de la brûlure radiologique chez le porc (irradiation γ de 40 Gy, 5×10 cm) [62].

Notre objectif étant de tester les possibilités de l'imagerie polarimétrique comme technique

in-vivo non invasive pour évaluer la dose délivrée notamment dans des conditions où l'observation clinique classique ne suffit pas, tous les résultats que nous montrons ici ont été obtenus *en l'absence de signes cliniques visibles*, soit parce que les mesures ont été faites avant leur apparition, soit parce que l'animal n'en a pas développé. La peau des zones irradiées avait exactement le même aspect visuel que celles des zones saines.

Avec notre polarimètre de Mueller nous avons imagé dans le domaine spectral compris entre 500 et 700 nm¹ des biopsies de la peau de quinze porcs irradiés à des doses de 5 à 60 Gy à différents délais après irradiation. En parallèle, nous avons suivi in vivo six porcs irradiés à 10, 15, 40 et 60 Gy afin d'étudier la cinétique d'évolution des brûlures radiologiques. Pour cela, nous avons effectué seize missions au CRSSA entre mars 2005 et juillet 2006. Initialement, nous avons voulu utiliser cinq longueurs d'onde, également distribuées dans la partie du spectre que notre imageur fonctionne : 500, 550, 600, 650 et 700 nm. En raison de la durée limitée de l'anesthésie, nous avons décidé de travailler prioritairement à 500, 600 et 700 nm.

Toutes les mesures n'ont pas encore été pleinement exploitées à ce jour, pour des raisons diverses (développement de plaies, notamment à la suite de contacts avec d'autres instruments, impossibilité de mettre en œuvre la procédure de recalage décrite plus loin sur un certain nombre de mesures sur des zones ne présentant pas de motifs "tatouages" adéquats etc.). Les résultats décrits par la suite ne concernent que les mesures dont nous pensons qu'elles ont été réalisées dans les meilleures conditions.

4.7 Images polarimétriques ex-vivo sur des biopsies

4.7.1 Mesures

La matrice de Mueller typique d'une biopsie apparaît sur la figure 4.18 (a). La matrice est essentiellement *diagonale*, ce qui signifie que la peau du porc est pratiquement un dépolariseur, avec très peu de retard ou dichroïsme. C'est du moins ce qu'on observe en rétrodiffusion sous incidence quasi-normale. Si nous augmentons l'angle d'incidence en tournant le bras d'éclairage du polarimètre, le dichroïsme et le retard augmentent, comme le montrent l'augmentation des valeurs absolues des divers éléments de la matrice à l'exception des M_{14} et M_{41} sur la figure 4.18 (b).

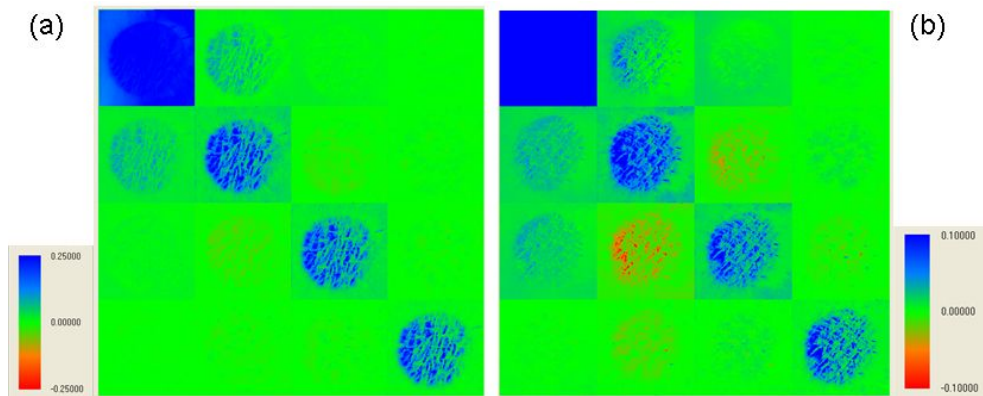


FIG. 4.18 – Matrice de Mueller d'une biopsie de la peau de porc irradié à 15 Gy imagé à 700 nm en retro-diffusion (a) et à un angle d'incidence de 60° (b).

Le signal disponible sur la CCD variant sensiblement en fonction de la longueur d'onde, nous avons d'abord voulu vérifier que ce paramètre n'influe pas sur la mesure de la matrice de Mueller normalisée. Pour cela nous avons effectué cinq mesures consécutives des mêmes échantillons en

¹Il s'agit du domaine du spectre dans lequel notre polarimètre fonctionne avec les composants optiques actuels.

augmentant à chaque fois l'intensité de la source lumineuse, comme indiquée sur la figure 4.19. Aucune variation significative de la matrice de Mueller normalisée n'a été constatée.

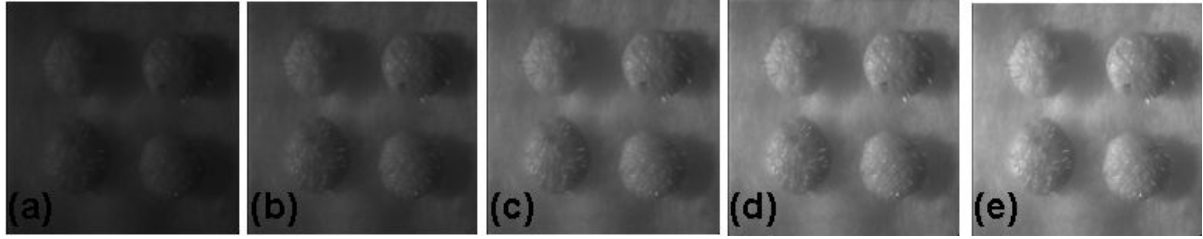


FIG. 4.19 – Quatre échantillons de biopsie imagés à cinq différents niveaux d'intensité : 0,11 (a), 0,21 (b), 0,31 (c), 0,41 (d), 0,51 (e) en unités arbitraires.

Sur la figure 4.20 nous présentons un exemple d'images obtenues simultanément sur quatre échantillons différents : deux sains en haut à gauche et en bas à droite et deux irradiés à 60 Gy, en haut à droite et en bas en gauche. Il s'agit en fait de biopsies prélevées 35 jours après irradiation. Les images ont été acquises à trois longueurs d'onde : 500, 600 et 700 nm en incidence quasi-normale. Sur la première colonne nous présentons les images en intensité (élément M_{11} de la matrice de Mueller), au milieu les images en degré de polarisation et à droite les images indicatives de la polarisation circulaire des échantillons (élément M_{44} de la matrice de Mueller). Si on ne peut pas différencier les échantillons irradiés des échantillons sains sur les images en intensité, en revanche on les distingue clairement sur les images en DOP et en M_{44} , où les échantillons irradiés apparaissent plus clairs, donc moins dépolarisants, en accord avec les résultats obtenus précédemment par l'équipe de Brest [61].

4.7.2 Méthode d'analyse d'images

Pour utiliser les propriétés de dépolarisation des échantillons nous utilisons l'indice de la dépolarisation moyenne définie par l'équation 1.40. En appliquant cette formule aux matrices de Mueller mesurées expérimentalement, en deux dimensions, nous obtenons des images qui ont la forme apparaissant sur la figure 4.21.

Il est intéressant de noter que la peau ne présente pas une dépolarisation uniforme. Au contraire, nous pouvons facilement démontrer que les minima de la dépolarisation correspondent aux maxima de l'élément M_{11} , c'est-à-dire la réflexion spéculaire de la lumière par l'échantillon. C'était un résultat attendu et cela démontre que l'indice de dépolarisation est très fortement corrélé avec l'état de la surface de l'échantillon étudié. Nous avons constaté que tous les termes diagonaux de la matrice de Mueller des échantillons de la peau sont très fortement corrélés, comme cela apparaît sur les figures 4.22 et 4.23.

De manière plus quantitative, nous avons calculé l'indice de corrélation :

$$r = \frac{\sum_m \sum_n (A_{mn} - \bar{A})(B_{mn} - \bar{B})}{\sqrt{(\sum_m \sum_n (A_{mn} - \bar{A})^2)(\sum_m \sum_n (B_{mn} - \bar{B})^2)}} \quad (4.17)$$

La valeur moyenne de l'indice de corrélation entre l'élément M_{11} et les autres éléments diagonaux est de l'ordre de 0,6. En revanche, la corrélation limitée aux termes M_{22} , M_{33} et M_{44} , atteint une valeur de 0,97.

La partie gris clair de l'image 4.21, la plus dépolarisée, contient a priori des informations concernant le volume de l'échantillon, tandis que la partie sombre, moins dépolarisée, contient des informations concernant essentiellement la surface. Cette distinction est pour l'instant plutôt qualitative, et n'a pas pour prétention de définir quantitativement la profondeur atteinte par la

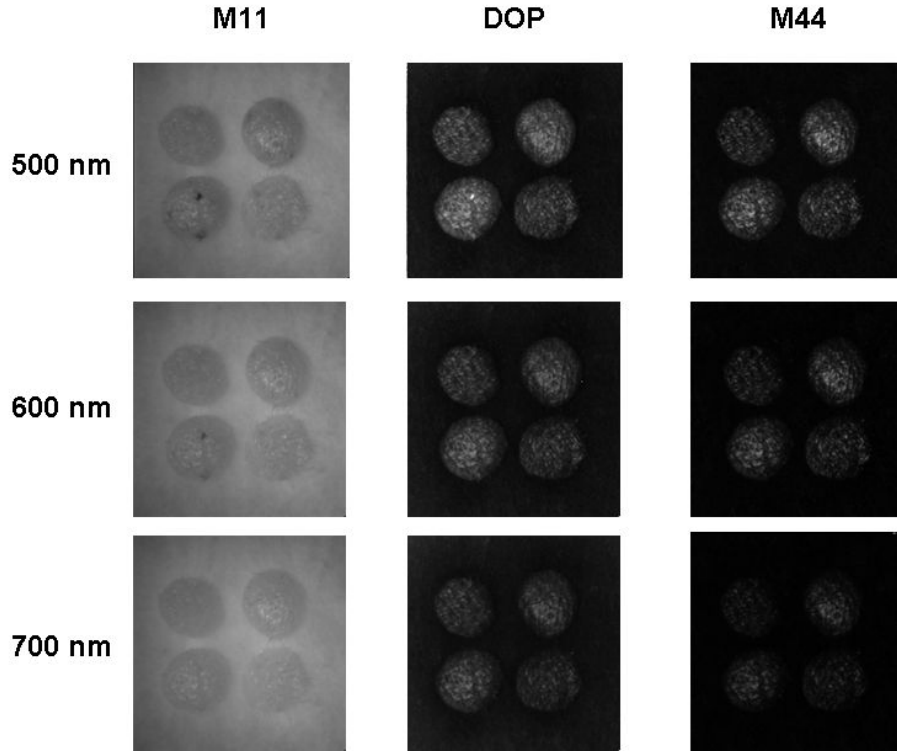


FIG. 4.20 – Images obtenues de quatre échantillons de biopsies imagés en même temps : deux sains (en haut à gauche et en bas à droite) et deux irradiés à 60 Gy (en haut à droite et en bas à gauche). Les mesures ont été effectuées 35 jours après irradiation en incidence quasi-normale à trois longueurs d'onde : 500 (ligne du haut), 600 (ligne du milieu) et 700 nm (ligne du bas). La première colonne correspond aux images en intensité (élément M_{11} de la matrice de Mueller), la deuxième colonne aux images en degré de polarisation et la troisième colonne à l'élément M_{44} de la matrice de Mueller, normalisé par M_{11} . L'échelle varie de 0 (noir) à 1 (blanc).

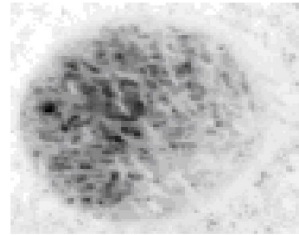


FIG. 4.21 – Image typique en dépolarisation d'un échantillon de biopsie de peau de porc irradié. L'échelle varie de 0 (noir) à 1 (blanc).

lumière émergeant sur tel ou tel pixel à partir de l'indice de dépolarisation (et de la longueur d'onde). Il faudrait pour cela disposer d'un modèle de diffusion de la lumière dans la peau (et accessoirement de validations sur des tissus fantômes) qui n'a pas pu être développé dans le cadre de ce travail.

Ceci étant, il est raisonnable de penser que les pixels les plus brillants et les moins dépolarisés ont reçu une plus grande proportion de lumière réfléchi directement, sans doute en raison de l'orientation locale favorable de l'élément de peau imagé. Il paraît intéressant de mener une première étude expérimentale utilisant une extension de l'indice de dépolarisation classique à l'imagerie polarimétrique prenant en compte ces inhomogénéités de dépolarisation.

Pour cela, nous utilisons un seuillage sur l'élément M_{22} (normalisé par le M_{11}). Pour chaque

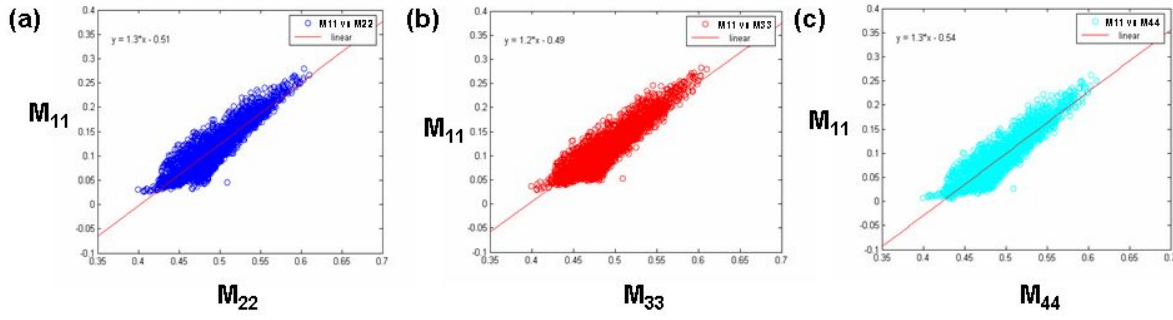


FIG. 4.22 – Corrélation des éléments diagonaux de la matrice de Mueller, M_{22} (a), M_{33} (b) et M_{44} (c), avec le M_{11} .

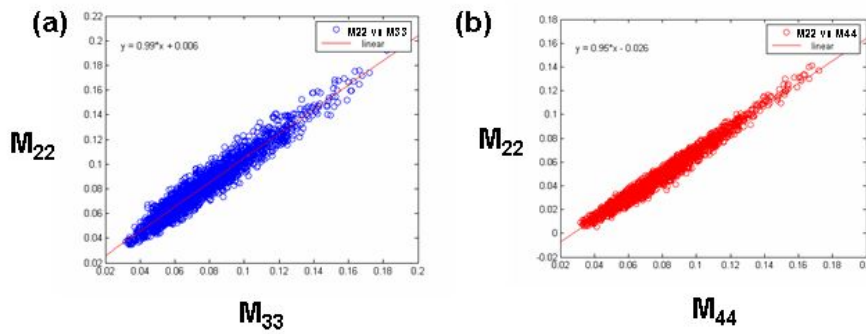


FIG. 4.23 – Corrélation des deux autres éléments diagonaux de la matrice de Mueller, M_{33} (a) et M_{44} (b), avec le M_{22} .

valeur du seuil nous calculons l'indice de dépolarisation, en tenant compte dans un premier temps seulement les pixels qui ont des valeurs inférieures au seuil, et nous relevons le taux de ces pixels. La figure 4.24 illustre cette approche. A droite (b) nous observons la diminution de l'indice de dépolarisation avec l'augmentation du seuil. Plus concrètement, nous commençons par calculer l'indice de dépolarisation sur les pixels pour lesquels le M_{22} normalisé est le plus faible (et qui sont également parmi les plus sombres, compte tenu de la corrélation entre M_{11} et M_{22}) de l'image. Nous ajoutons à l'échantillon des pixels dont le M_{22} est de plus en plus élevé et nous calculons la nouvelle valeur de l'indice de dépolarisation. De cette façon nous pouvons étudier l'évolution de l'indice de dépolarisation de la diffusion dans le volume de l'échantillon vers sa valeur moyenne pour l'ensemble de l'image. L'image à gauche (a) représente sur la matrice de Mueller de l'échantillon les pixels dont nous tenons compte pour le calcul de l'indice de dépolarisation à l'application du tout premier seuil. Les pixels non utilisés dans le calcul sont représentés avec une valeur égale à zéro.

Dans un deuxième temps, la même méthode est appliquée, mais nous n'utilisons cette fois que les pixels qui ont une valeur *supérieure* au seuil défini sur M_{22} . Un exemple de cette approche est présenté sur la figure 4.25. A droite (b) nous représentons la diminution de l'indice de dépolarisation avec l'augmentation du seuil. Cette fois-ci, nous commençons par calculer l'indice de dépolarisation sur l'ensemble de pixels de l'image et successivement nous tenons compte au calcul de la dépolarisation seulement les pixels les plus brillantes. Cela nous permet d'explorer l'évolution de l'indice de dépolarisation quand nous passons de l'ensemble de l'échantillon aux phénomènes de diffusion à sa surface. Dans les deux graphes, l'échelle en couleur correspond au pourcentage de pixels utilisés dans le calcul de l'indice de dépolarisation. L'image à gauche (a) représente sur la matrice de Mueller de l'échantillon les pixels dont nous tenons compte pour le calcul de l'indice de dépolarisation à l'application du tout premier seuil.

La diminution de l'indice de dépolarisation représentée sur ces graphes est attendue, parce

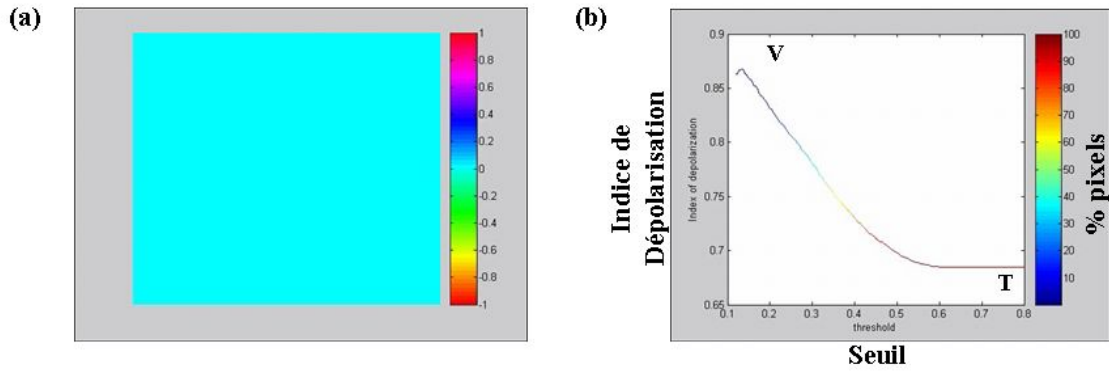


FIG. 4.24 – Exemple typique d'une matrice de Mueller pour un seuil égal à zéro (a) et de l'évolution de l'indice de dépolarisation par rapport au seuil appliqué sur M_{22} quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon. L'échelle en couleur de la courbe de droite correspond au pourcentage de pixels utilisés à chaque fois dans le calcul de l'indice de dépolarisation.

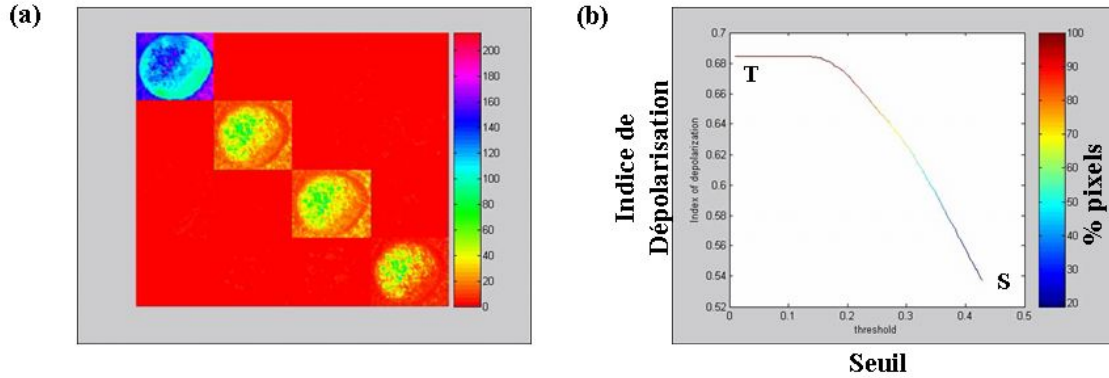


FIG. 4.25 – Exemple typique d'une matrice de Mueller pour un seuil égal à zéro (a) et de l'évolution de l'indice de dépolarisation par rapport au seuil appliqué quand nous passons de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S). Les échelles en couleur correspondent respectivement : aux valeurs d'intensité pour une caméra de 8 bits (a) et au pourcentage de pixels utilisés à chaque fois dans le calcul de l'indice de dépolarisation (b).

que le volume d'un échantillon dépolarise plus (indice de dépolarisation égal à 0,865 pour ce cas) que la surface (indice de dépolarisation égal à 0,54). Évidemment, la valeur intermédiaire de 0,685 pour l'ensemble de la matrice est également attendue.

Avec cette méthode, nous avons un outil pour l'étude de dépolariseurs spatialement inhomogènes, et nous pouvons "trier" les photons en fonction du nombre de diffusions qu'ils ont subies, même si c'est pour l'instant en "unités arbitraires". De plus, dans les cas où l'indice de dépolarisation n'est pas suffisant pour faire une discrimination, le taux de pixels supérieur ou inférieur à un seuil donné peut s'avérer un paramètre d'importance décisive.

4.7.3 Résultats

Effet de la longueur d'onde

Pendant cette étude nous avons travaillé à différentes longueurs d'onde entre 500 et 700 nm. Nous rappelons que la réflectance de la peau augmente avec la longueur d'onde, mais un rayonnement à 700 nm peut pénétrer plus profondément dans la peau qu'à 500 nm. On peut

donc s'attendre à une dépolarisation plus élevée à 700 nm par rapport à 500 nm, mais une meilleure sensibilité à l'état de la surface de la peau à 700 nm qu'à 500 nm.

Sur la figure 4.26 nous présentons les résultats sur l'indice de dépolarisation de la méthode des seuils variants appliquée sur une biopsie de peau de porc irradié à 60 Gy pour cinq longueurs d'onde différentes : 500, 550, 600, 650 et 700 nm. Effectivement, la dépolarisation augmente avec la longueur d'onde. Ce résultat expérimental confirme le fait que la profondeur de la peau atteinte par la lumière augmente avec la longueur d'onde (dans le domaine 500-700 nm, figure 4.11(b)).

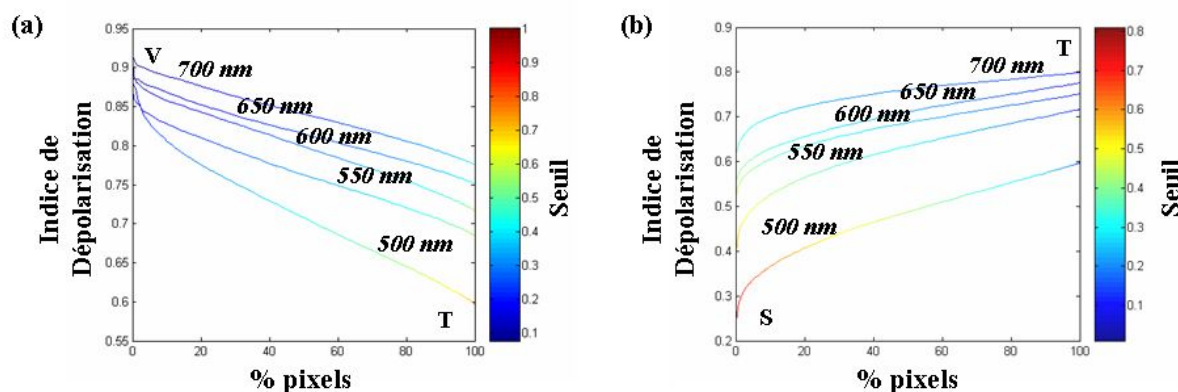


FIG. 4.26 – Evolution de l'indice de dépolarisation par rapport au pourcentage de pixels utilisés pour son calcul quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon (a) et de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S) (b), respectivement pour une biopsie de peau de porc irradié à 60 Gy, imagée à cinq longueurs d'onde de 500 à 700 nm. L'échelle en couleur correspond au seuil appliqué.

Par la suite, nous présentons les résultats obtenus par cette méthode en suivant un ordre chronologique, regroupés en trois catégories : un jour après irradiation, un mois après irradiation et un an après irradiation.

Résultats un jour après irradiation

Un jour après irradiation la peau ne présente pas d'altérations visibles par rapport à son état avant irradiation. Cela a été confirmé par la polarimétrie. Nous avons appliqué notre méthode sur une biopsie témoin et deux biopsies de peau de porc irradiées à respectivement 5 et 15 Gy, de trois individus différents. Nous n'avons observé aucune tendance significative, comme le montre la figure 4.27, ce qui peut correspondre à une phase où l'effet de l'irradiation n'est pas "stabilisé".

De ce point de vue, les brûlures radiologiques présentent un comportement différent par rapport aux autres types de brûlures. Il est évident qu'il y a une période de latence avant l'apparition des premières signes, cliniques ou polarimétriques.

Résultats un mois après irradiation

Un mois après irradiation la différenciation entre 0, 5 et 15 Gy se fait facilement sur les graphes de la figure 4.28. La diminution de la dépolarisation avec l'augmentation de la dose est évidente. Il est intéressant de remarquer que pour l'échantillon de 15 Gy la discrimination est possible pour tous seuils, du volume, à la surface et à la totalité de l'échantillon. Nous pouvons conclure qu'en un mois après irradiation l'ensemble de la structure interne de la peau a été modifiée par l'irradiation, bien que des statistiques beaucoup plus étoffées soient nécessaires. Il faut souligner à cet égard que de telles statistiques ne pourront être obtenues que par des

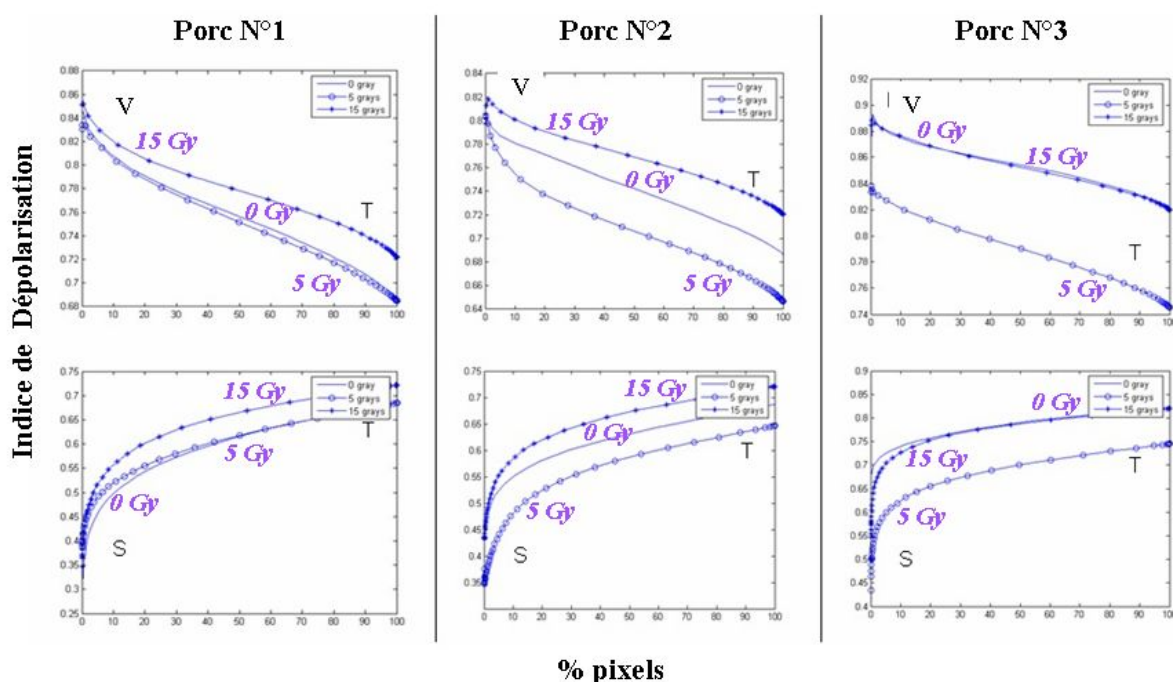


FIG. 4.27 – Evolution de l'indice de dépolarisation par rapport au pourcentage de pixels utilisés pour son calcul quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon et de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S), respectivement pour une biopsie témoin et deux biopsies de peau de porc irradié à 5 et 15 Gy, prélevées un jour après irradiation et imagées à 700 nm. L'échelle en couleur correspondant au seuil appliqué a été omise afin de faciliter la lecture des graphes.

techniques utilisables in vivo comme celle que nous décrivons plus loin et non ex vivo comme c'est le cas pour les biopsies.

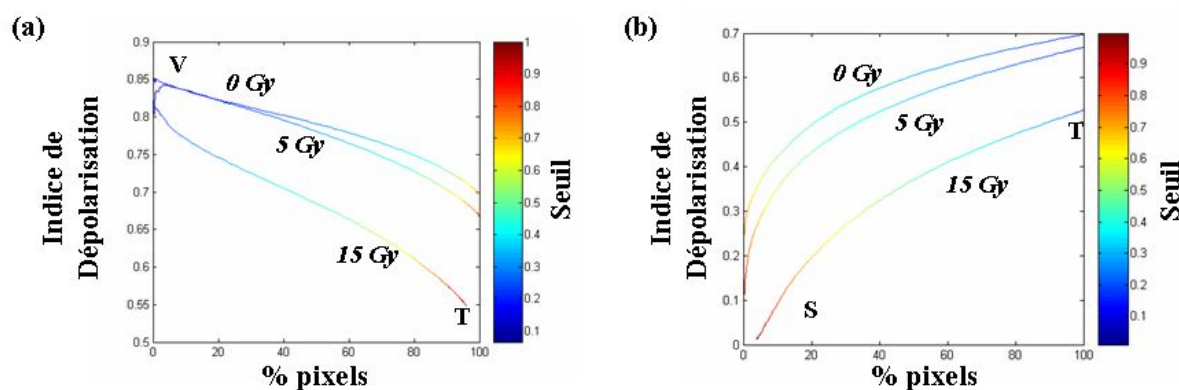


FIG. 4.28 – Evolution de l'indice de dépolarisation par rapport au pourcentage de pixels utilisés pour son calcul quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon et de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S), respectivement pour une biopsie témoin et deux biopsies de peau de porc irradié à 5 et 15 Gy, prélevées un mois après irradiation et imagées à 700 nm. L'échelle en couleur correspond au seuil appliqué.

La distinction se fait encore plus aisément pour des doses plus élevées, comme cela se voit sur la figure 4.29. La diminution de la dépolarisation avec l'augmentation de la dose se confirme. Il faut noter que la dépolarisation qui a eu lieu dans le volume de l'échantillon n'apparaît pas affectée par l'irradiation. Il faut bien tenir compte de l'ensemble de l'échantillon ou bien regarder

la surface.

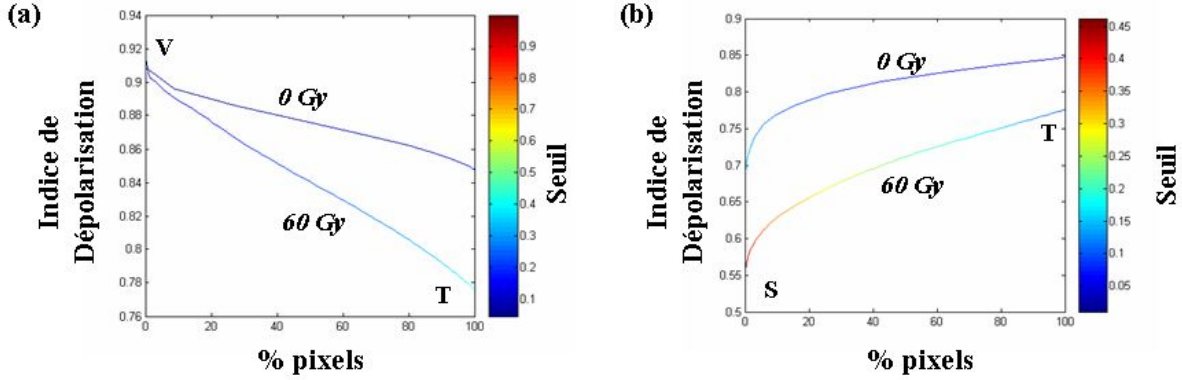


FIG. 4.29 – Evolution de l'indice de dépolarisation par rapport au pourcentage de pixels utilisés pour son calcul quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon et de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S), respectivement pour une biopsie témoin et une biopsie de peau de porc irradiée à 60 Gy, prélevées un mois après irradiation et imagées à 700 nm. L'échelle en couleur correspond au seuil appliqué.

La différence entre le niveau de dépolarisation pour la biopsie témoin sur les deux porcs démontre la variabilité inter-individu et cela justifie notre choix de présenter les résultats par individu.

Il faut noter que nous avons également choisi de présenter uniquement les résultats à 700 nm, où la discrimination parmi les différentes doses se fait plus aisément, grâce à la longueur de pénétration de la lumière dans les tissus biologiques à cette longueur d'onde. Les résultats pour les autres longueurs d'onde ont bien la même forme, et suivent les tendances illustrées sur la figure 4.26.

Résultats un an après irradiation

Les résultats obtenus respectivement pour une biopsie témoin et deux biopsies irradiées à 15 et 60 Gy, prélevées sur le même animal un an après irradiation et imagées à 500 et 700 nm apparaissent respectivement sur les figures 4.30 et 4.31. Il nous paraît ici particulièrement intéressant d'illustrer les résultats pour les deux longueurs d'onde extrêmes de notre étude. Il apparaît très clairement que contrairement à 700 nm, pour 500 nm aucune discrimination n'est possible entre les deux échantillons irradiés. Cette différence peut sans doute se justifier par l'écart au niveau de la profondeur atteinte par ces deux différentes longueurs d'onde, comme cela a été expliqué précédemment. A partir de cette observation, nous pouvons penser qu'un an après irradiation, la peau, même si elle paraît cicatrisée au niveau des couches supérieures, a subi une re-organisation dans les couches les plus profondes. Si nous considérons de nouveau les graphes sur la figure 4.31, nous constatons que la discrimination entre les différents échantillons est plus flagrante pour le volume (graphe (a)) que pour la surface (graphe (b)). Cela est particulièrement patent si on compare les résultats de discrimination entre 0 et 15 Gy à 700 nm, un mois et un an après irradiation apparaissant sur les graphes 4.28 et 4.31. La différenciation entre 0 et 15 Gy est globalement plus facile à distinguer un mois plutôt qu'un an après irradiation, mais la perte de ce pouvoir discriminant avec le temps est plus importante pour la surface (graphes (b)) que pour le volume (graphes (a)).

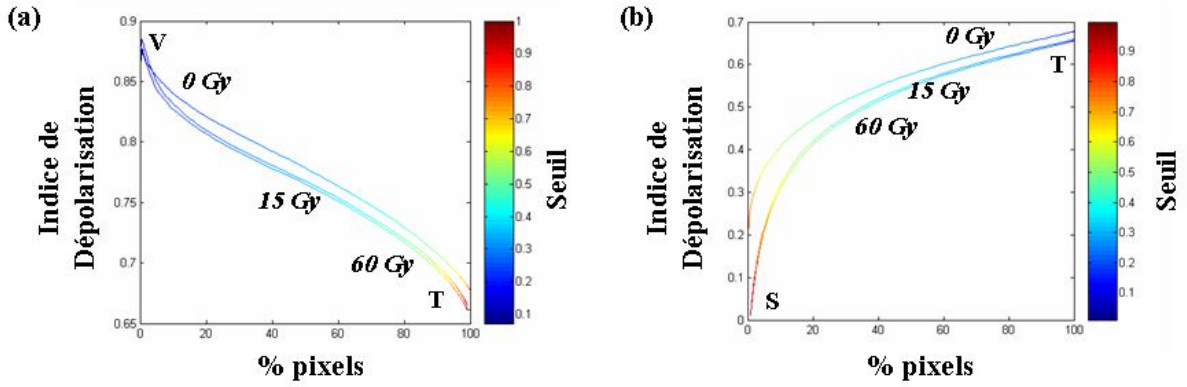


FIG. 4.30 – Evolution de l'indice de dépolarisation par rapport au pourcentage de pixels utilisés pour son calcul quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon et de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S), respectivement pour une biopsie témoin et deux biopsies de peau de porc irradié à 15 et 60 Gy, respectivement, prélevées un an après irradiation et imagées à 500 nm. L'échelle en couleur correspond au seuil appliqué.

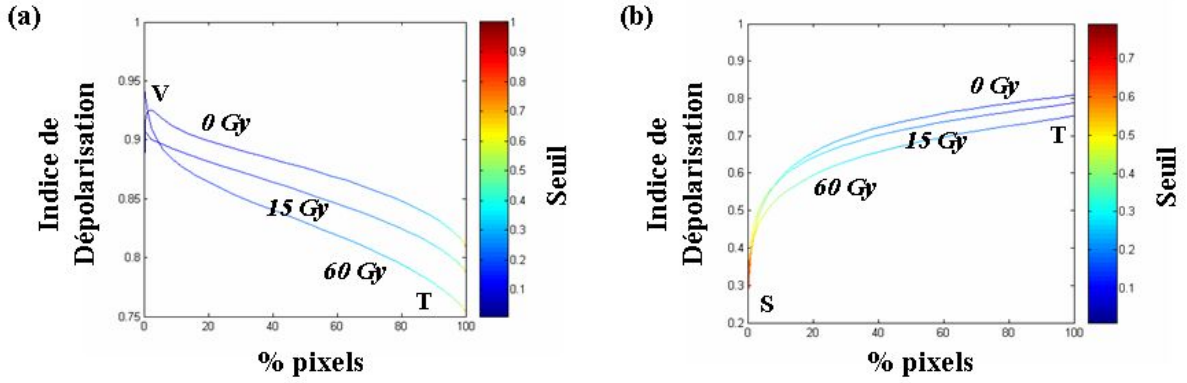


FIG. 4.31 – Evolution de l'indice de dépolarisation par rapport au pourcentage de pixels utilisés pour son calcul quand nous passons du volume (V) à la totalité (T) de l'échantillon et de la totalité (T) de l'échantillon à sa surface (S), respectivement pour une biopsie témoin et deux biopsies de peau de porc irradié à 15 et 60 Gy, respectivement, prélevées un an après irradiation et imagées à 700 nm. L'échelle en couleur correspond au seuil appliqué.

4.8 Images polarimétriques in-vivo

Sur la figure 4.32 (a) nous présentons une image typique d'un porc anesthésié, placé sur la table de mesure sous notre polarimètre. Chaque porc a été imagé sur six zones de $4 \times 4 \text{ cm}^2$ (figure 4.32 (b)) sur la partie saine, la partie irradiée et sur leur interface.

Les toutes premières matrices de Mueller mesurées avaient la forme présentée sur la figure 4.33. Le manque de netteté ainsi que le dédoublement des tatouages provient des mouvements respiratoires de l'animal pendant l'acquisition, qui dure environ onze secondes, soit beaucoup plus qu'un cycle respiratoire.

Nous nous sommes vite rendus compte du problème du mouvement respiratoire de l'animal, mais il s'est avéré impossible de recalrer les images brutes les unes par rapport aux autres en se repérant uniquement sur les inhomogénéités d'aspect naturellement présentes sur la peau. Nous avons demandé aux vétérinaires du CRSSA, Diane Agay et Yves Chancerelle, de marquer les tatouages sous forme de petits carrés (figure 4.32), tatouages qui peuvent également aider à mieux définir les gradients de dose dans la zone concernée. Avec ces motifs sur les images il a été possible de recalrer les images brutes par une méthode de flux optique multiéchelle proposée

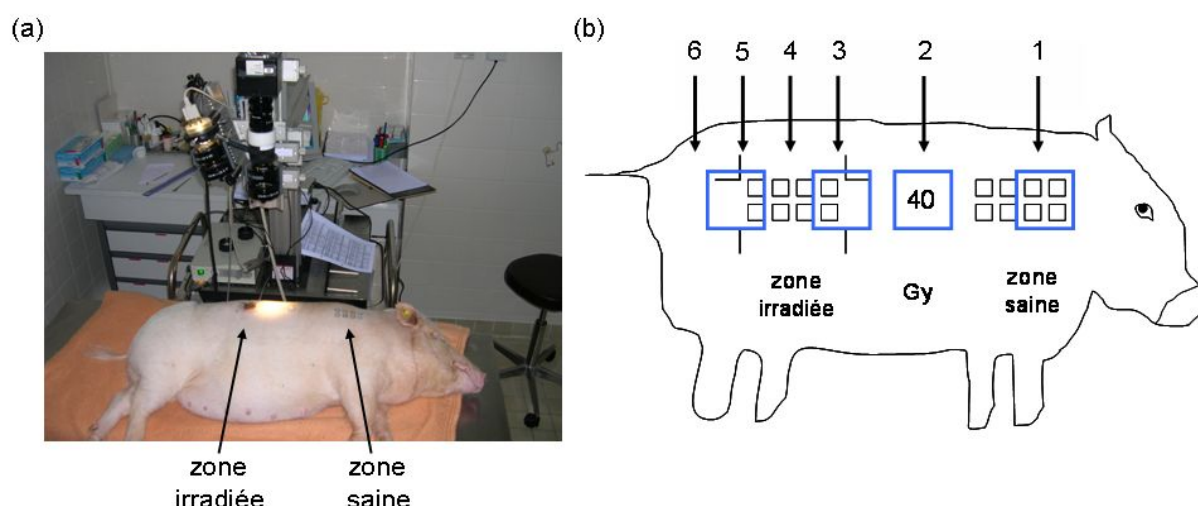


FIG. 4.32 – Porc imagé in-vivo par notre polarimètre de Mueller : photographie d'un porc anesthésié sur la table de mesure (a), dessin des zones imagedes (b). Les petits carrés noirs correspondent aux tatouages effectués par les vétérinaires du CRSSA sur les animaux de cette étude afin de pouvoir se repérer.

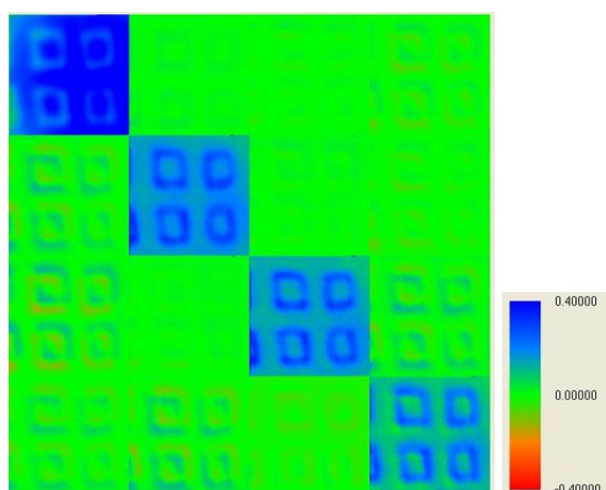


FIG. 4.33 – Matrice de Mueller in-vivo. Les carrés sont des tatouages pratiqués dans la zone irradiée. Les termes hors-diagonaux ainsi que le M_{44} présentent des artéfacts liés aux mouvements respiratoires de l'animal pendant l'acquisition des 16 images brutes.

et codée sous MATLAB par Steve Guyot, en séjour postdoctoral au LPICM pendant l'année académique 2006-2007. Avant d'appliquer cette méthode sur les images prises au CRSSA, la méthode, résumée ci-dessous, a été validée au LPICM sur un échantillon de viande de porc tatoué et imagé soit en conditions statiques, soit en le bougeant à la main de manière à imiter les mouvements respiratoires.

4.8.1 Méthode d'analyse d'images

La figure 4.34 montre deux images brutes typiques de l'échantillon test de viande de porc tatouée parmi les seize d'un cycle d'acquisition. Les images (a) et (b) correspondent respectivement à des états de polarisation des PSG et PSA quasi orthogonaux, ou quasi identiques. Les points les plus brillants de l'image (b), pour lesquels la contribution spéculaire est la plus importante, ne se voient pas sur l'image (a). Ce comportement est tout à fait typique de ce

genre d'échantillons : le contraste, ainsi que l'intensité moyenne de l'image dépendent fortement de l'état de polarisation incident et détecté, et à première vue toute méthode de recalage fondée sur une recherche de similitude entre les deux images paraît inapplicable. En réalité, si les contrastes sont effectivement très différents, on reconnaît quand même les motifs d'une image à l'autre, surtout à petite échelle. Une méthode multiéchelle, recalant d'abord le tatouage (qu'on retrouve sur toutes les images) puis les motifs à petite échelle paraît ainsi jouable. Ceci étant, la similitude des motifs à petite échelle est dû à l'absence de retard ou de diatténuation importante sur ce type d'échantillon, et par conséquent une méthode de ce type ne peut fonctionner que sur des échantillons spatialement inhomogènes dont la réponse polarimétrique est dominée par la dépolarisation.

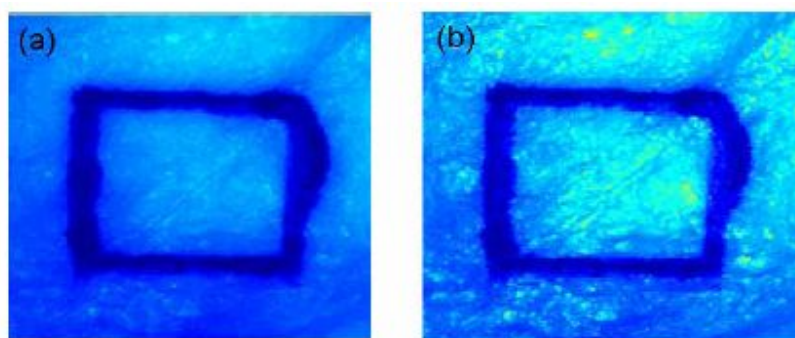


FIG. 4.34 – Deux images brutes typiques d'un échantillon de peau de porc tatoué pour des états de polarisation différents [63].

Les histogrammes en intensité des images représentées sur la figure 4.34 sont reproduits sur la figure 4.35. Le maximum qui apparaît sur les deux graphes aux intensités basses correspond évidemment à la zone tatouée. Même si un grand nombre de pixels apparaît aux mêmes niveaux d'intensité pour les deux histogrammes, sur l'histogramme (b) il y a une forte contribution des pixels brillants du côté des intensités hautes. Les images (a) et (b) sont celles qui présentent la plus grande différence dans le cycle d'acquisition. Les histogrammes des quatorze autres images brutes présentent des formes similaires, mais avec un contraste moindre sur les intensités élevées.

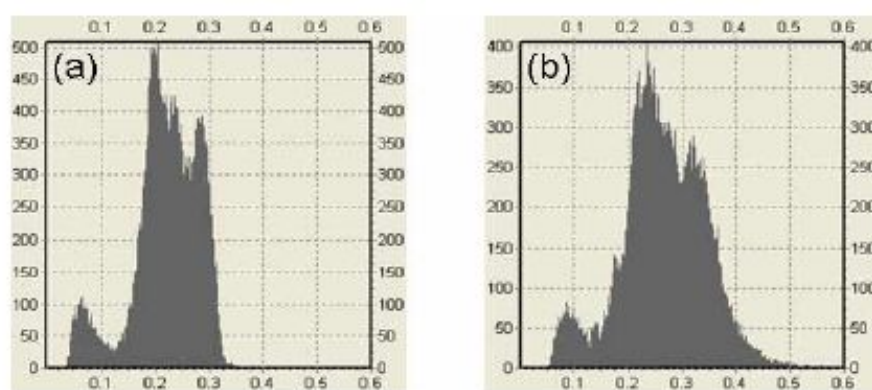


FIG. 4.35 – Histogrammes des images brutes apparaissant sur la figure 4.34. Les intensités (axe horizontal) sont normalisées par rapport au niveau de saturation de la CDD [63].

Pour minimiser l'influence des variations de l'intensité moyenne d'une image à l'autre et privilégier les motifs à petite échelle, la méthode met en œuvre la technique de flux optique (recherche du déplacement d'une des images donnant la meilleure superposition avec l'autre) basée sur le *gradient* de l'intensité et non sur l'intensité elle-même. De plus, vu que les échantillons vivants ne sont pas rigides, nous avons considéré une transformation *non-uniforme* (en

fait un champ de déplacements) d'abord à grande échelle, localement sur des zones plus petites des images consécutives.

Six paramètres sont utilisés pour l'estimation du mouvement de l'objet [63] :

$$p(x, y, t) = a + bx + cy, \quad q(x, y, t) = d + ex + fy \quad (4.18)$$

où $(p(x, y, t), q(x, y, t))$ est le déplacement induit sur le pixel (x, y) par le mouvement de l'objet entre les images prises aux instants t et $t + 1$. En considérant les déplacements petits, pour deux images consécutives, la variation de l'intensité sur le même point physique de l'échantillon peut être développée au premier ordre :

$$I(x + p, y + q, t + 1) - I(x, y, t) = pI_x + qI_y + I_t \quad (4.19)$$

où I_x , I_y et I_t sont les dérivées partielles de l'intensité $I(x, y, t)$.

Compte tenu de la similarité des motifs à petite échelle, le déplacement est déterminé en minimisant la moyenne quadratique des variations d'intensité définie par l'équation 4.19, ou de manière équivalente, de la fonction d'erreur :

$$D^2(p, q) = \sum_{x,y} (pI_x + qI_y + I_t)^2 \quad (4.20)$$

sur la région d'intérêt, avec le déplacement défini par le modèle affiné, qui donne le système suivant de six équations linéaires pour les six inconnues (a, b, c, d, e, f) :

$$\begin{bmatrix} \sum I_x^2 & \sum xI_x^2 & \sum yI_x^2 & \sum I_xI_y & \sum xI_xI_y & \sum yI_xI_y \\ \sum xI_x^2 & \sum x^2I_x^2 & \sum xyI_x^2 & \sum xI_xI_y & \sum x^2I_xI_y & \sum xyI_xI_y \\ \sum yI_x^2 & \sum xyI_x^2 & \sum y^2I_x^2 & \sum yI_xI_y & \sum xyI_xI_y & \sum y^2I_xI_y \\ \sum I_xI_y & \sum xI_xI_y & \sum yI_xI_y & \sum I_y^2 & \sum xI_y^2 & \sum yI_y^2 \\ \sum xI_xI_y & \sum x^2I_xI_y & \sum xyI_xI_y & \sum xI_y^2 & \sum x^2I_y^2 & \sum xyI_y^2 \\ \sum yI_xI_y & \sum xyI_xI_y & \sum y^2I_xI_y & \sum yI_y^2 & \sum xyI_y^2 & \sum y^2I_y^2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} a \\ b \\ c \\ d \\ e \\ f \end{bmatrix} = - \begin{bmatrix} \sum I_xI_t \\ \sum xI_xI_t \\ \sum yI_xI_t \\ \sum I_yI_t \\ \sum xI_yI_t \\ \sum yI_yI_t \end{bmatrix} \quad (4.21)$$

Le code a été validé avec l'échantillon de viande de porc tatouée comme suit. La matrice de Mueller est d'abord mesurée dans des conditions statiques, avec le résultat reproduit sur la figure 4.36. La matrice est essentiellement diagonale, comme attendu. Ensuite, nous avons répété la mesure de la matrice de Mueller bougeant l'échantillon à la main, de manière à imiter le mouvement respiratoire. Le résultat apparaît sur la figure 4.37. Cette matrice présente des artéfacts importants, notamment les éléments non-diagonaux du bloc 3×3 supérieur gauche, avec des images parasites du tatouage.

Puis, nous appliquons le code de recalage sur les images brutes $(B_{ij}, i, j = 1 - 4)$, en prenant comme référence la première du cycle. Comme cela a été mentionné, l'algorithme est appliqué en deux étapes : d'abord sur l'image entière et dans un deuxième temps sur une fenêtre glissante de 10×10 pixels. Une fois le champ de déplacement déterminé, nous l'avons appliqué également aux matrices de calibration \mathbf{A}^{-1} et \mathbf{W}^{-1} pour tenir compte de leurs variations spatiales mises en évidence au chapitre 3, pour recalculer la matrice de Mueller à partir de ces images brutes. Cette matrice de Mueller reconstruite et le champ de déplacement correspondant apparaissent sur les figures 4.38 et 4.39.

L'effet du recalage est illustré plus en détail sur la figure 4.40, qui reproduit les images de l'élément M_{22} et permet de mieux visualiser la similitude entre l'image de référence (échantillon statique) et l'image de Mueller de l'échantillon en mouvement après recalage.

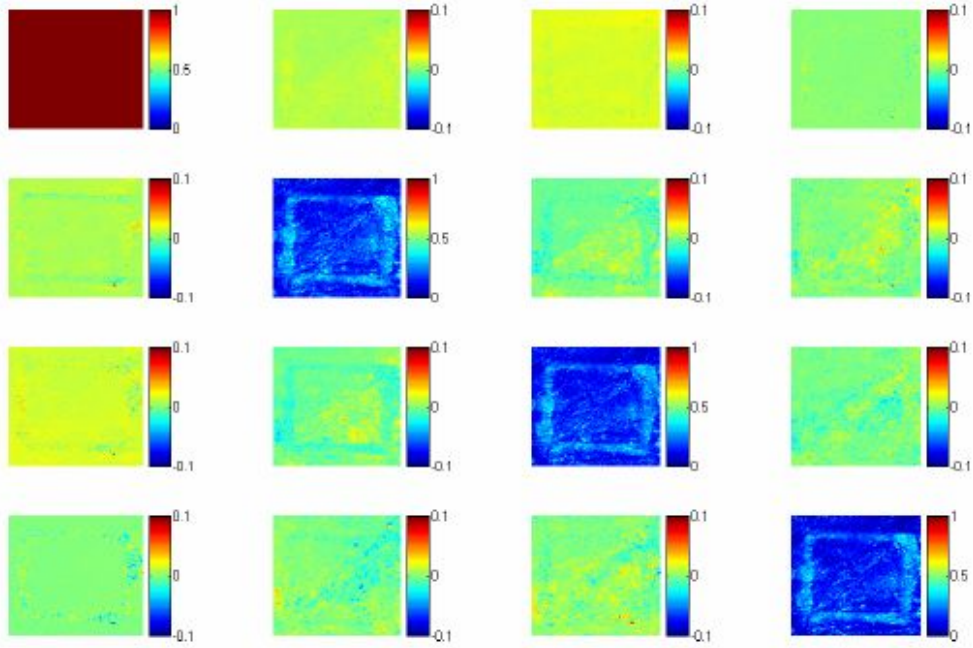


FIG. 4.36 – Matrice de Mueller normalisée d'un échantillon référence de peau de porc tatouée mesuré sous conditions statiques. Tous les éléments de la matrice sont normalisés par le M_{11} , qui n'apparaît pas. Les éléments diagonaux et non-diagonaux sont représentés avec des échelles de couleur différentes, afin de mieux visualiser les éléments non-diagonaux faibles [63].

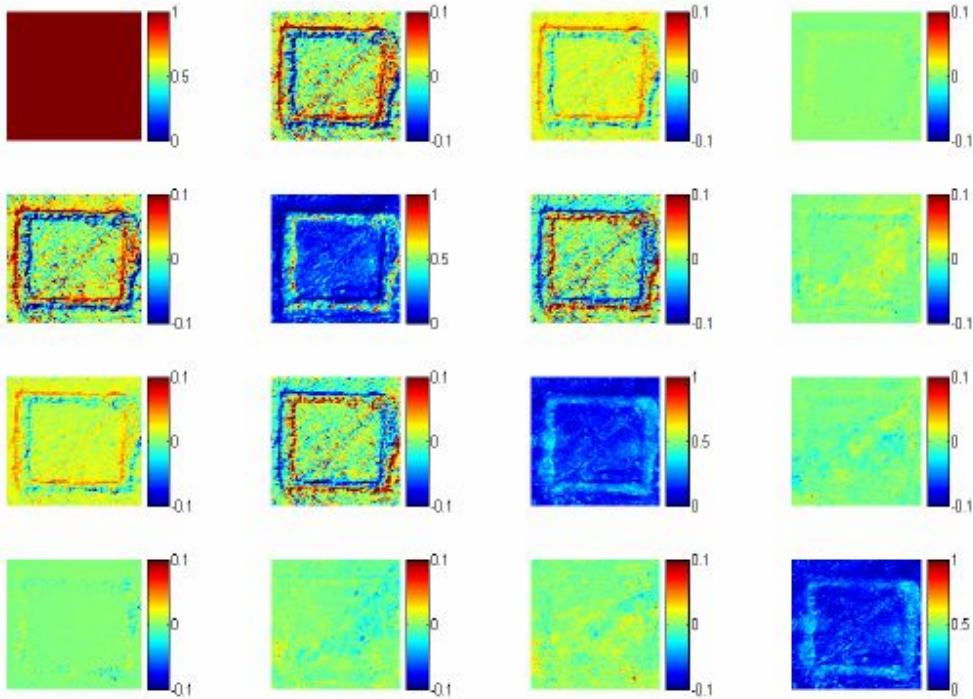


FIG. 4.37 – Matrice de Mueller normalisée d'un échantillon référence de peau de porc tatouée mesuré sous conditions dynamiques. Tous les éléments de la matrice sont normalisés par le M_{11} , qui n'apparaît pas. Les éléments diagonaux et non-diagonaux sont représentés avec des échelles de couleur différentes, afin de mieux visualiser les éléments non-diagonaux faibles [63].

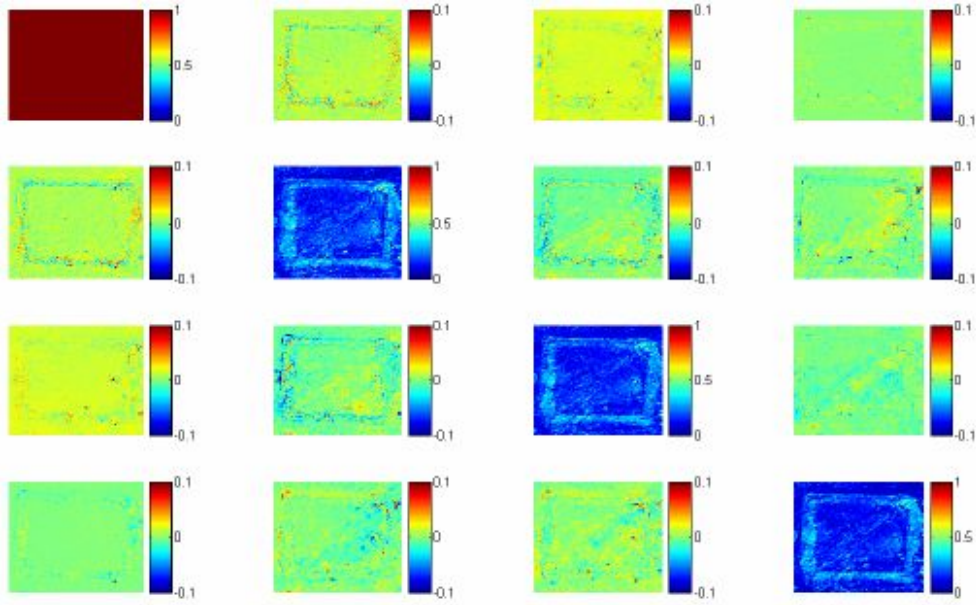


FIG. 4.38 – Matrice de Mueller normalisée d'un échantillon référence de peau de porc tatouée mesurée sous conditions dynamiques après recalage. Tous les éléments de la matrice sont normalisés par le M_{11} , qui n'apparaît pas. Les éléments diagonaux et non-diagonaux sont représentés avec des échelles de couleur différentes, afin de mieux visualiser les éléments non-diagonaux faibles [63].

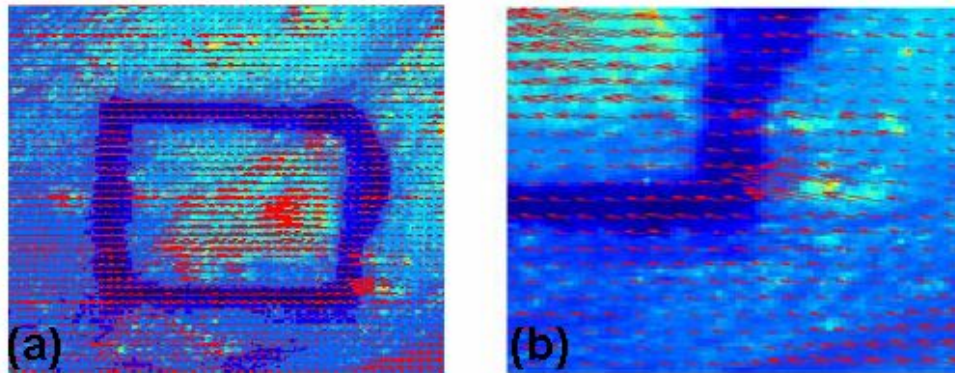


FIG. 4.39 – Champ de déplacement sur une image recalée. (a) : image entière entière, (b) : vue agrandie sur le coin inférieur droit du tatouage [63].

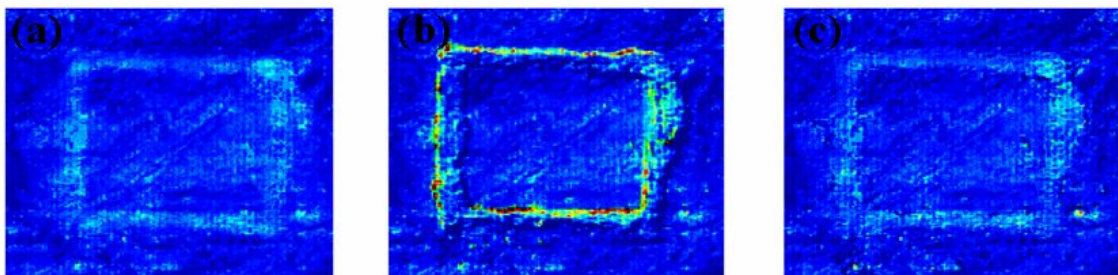


FIG. 4.40 – Zoom sur l'effet du recalage pour l'élément M_{22} de la matrice de Mueller. (a) : image de l'échantillon statique, (b) : image de l'échantillon en mouvement, sans recalage, (c) image de l'échantillon en mouvement avec recalage [63].

4.8.2 Résultats

Dans ce paragraphe nous présentons les résultats in-vivo sur un porc irradié à 40 Gy et suivi du jour 15 au jour 112 après irradiation avec des mesures régulières de la zone irradiée ainsi que de la zone saine. Ces zones ont été imagées en polarimétrie de Mueller à 500 et 700 nm, par les procédures d'acquisition et de recalage décrites plus haut.

A partir de chaque image de Mueller nous en avons calculé cinq autres, en *dépolarisation moyenne*, en *dépolarisation diagonale*, en *degré de polarisation linéaire*, en *degré de polarisation circulaire* et en *taux de mémoire*. Nous rappelons la définition de ces cinq grandeurs.

Dépolarisation moyenne La dépolarisation moyenne est calculée à partir de tous les éléments de la matrice de Mueller initiale de l'échantillon (équation 1.40).

Dépolarisation diagonale La dépolarisation diagonale est calculée après la décomposition polaire à partir des éléments diagonaux de la matrice du dépolariseur (équation 1.57). Elle peut révéler des contrastes différents de la dépolarisation moyenne pour des matrices non diagonaux.

Degré de polarisation linéaire Le degré de polarisation linéaire est défini comme :

$$DOP_L = \frac{I_{||} - I_{\perp}}{I_{||} + I_{\perp}} \quad (4.22)$$

qui pour un état de polarisation incident horizontal peut s'écrire en fonction des éléments de la matrice de Mueller de l'échantillon à partir de l'équation 1.10 comme :

$$DOP_L = \frac{M_{21} + M_{22}}{M_{11} + M_{12}} \quad (4.23)$$

Degré de polarisation circulaire Le degré de polarisation circulaire est défini en accord avec la définition du degré de polarisation linéaire (équation 4.22) comme :

$$DOP_C = \frac{I_{LL} - I_{RL}}{I_{LL} + I_{RL}} \quad (4.24)$$

qui pour un état de polarisation incident circulaire gauche peut s'écrire en fonction des éléments de la matrice de Mueller à partir de l'équation 1.11 comme :

$$DOP_C = \frac{M_{41} + M_{44}}{M_{11} + M_{14}} \quad (4.25)$$

Taux de mémoire Le taux de mémoire est défini comme le rapport du degré de polarisation circulaire sur le degré de polarisation linéaire DOP_C/DOP_L (respectivement équations 4.25 et 4.23).

Ces cinq indicateurs ont été calculés selon la méthode du seuil progressif développé dans le paragraphe précédent, sur des ensembles de pixels différents sur l'image, des plus sombres aux plus clairs en M_{22} . Sur les graphes qui suivent, nous avons décidé de représenter leurs valeurs pour trois cas :

1. Sur l'ensemble de pixels de l'image, ce que nous appelons "total".
2. Sur les 15 % de pixels les plus brillants de l'image, ce que nous considérons comme la contribution de la "surface" de l'échantillon.
3. Sur les 15 % de pixels les plus sombres de l'image, ce que nous considérons comme la contribution du "volume".

sans perdre de vue le côté qualitatif de ces dénominations.

Dépolarisation

Sur le graphe 4.41 nous présentons la dépolarisation moyenne (en haut) et diagonale (en bas) mesurées in-vivo à 500 nm sur un porc irradié à 40 Gy sur la zone irradiée, ainsi que sur la zone saine à des délais de 15 à 112 jours après irradiation.

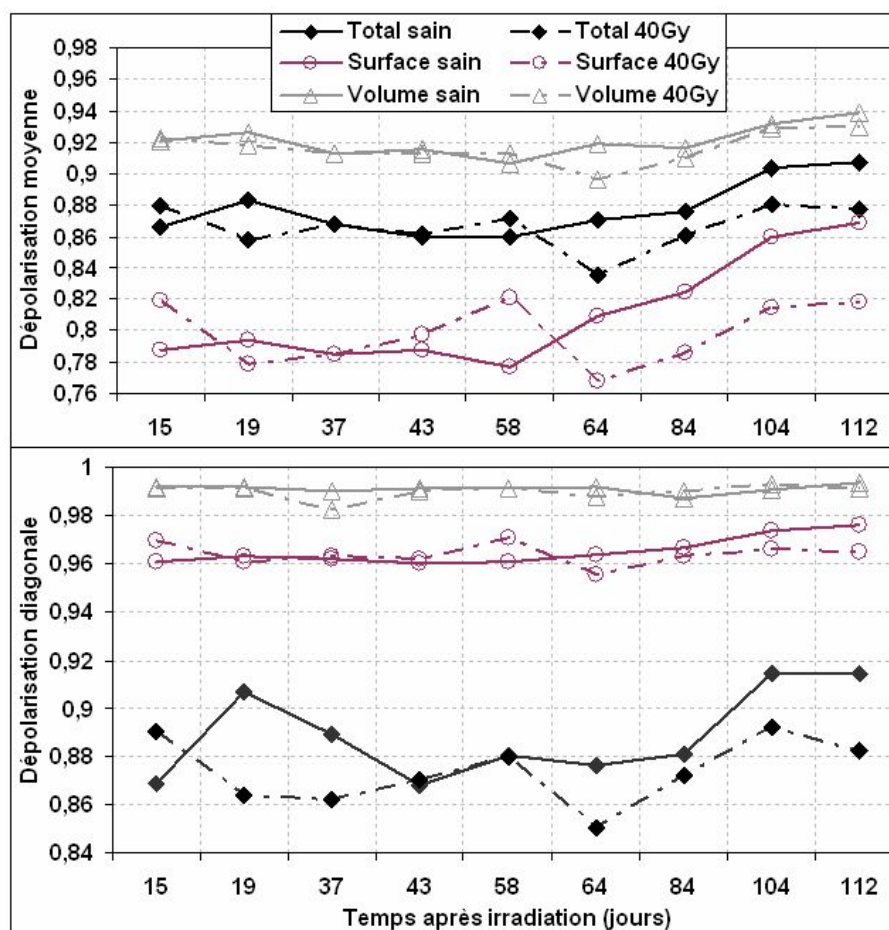


FIG. 4.41 – Dépolarisation moyenne (en haut) et diagonale (en bas) mesurées in-vivo à 500 nm sur un porc irradié à 40 Gy sur la zone saine (lignes continues) et sur la zone irradiée (lignes pointillées) à différents délais après irradiation.

Concernant la dépolarisation moyenne, les pixels de la "surface" dépolarisent moins que l'ensemble de l'image et que les pixels du "volume" dépolarisent encore plus, bien entendu. Quant à la dépolarisation diagonale, cette tendance se renverse entre les pixels de la surface et l'ensemble de l'image, qui apparaît moins dépolarisant. Ceci étant, la dépolarisation diagonale n'est vraiment adaptée qu'à des dépolariseurs "purs", et il reste à déterminer (par une décomposition de type Lu et Chipman avec un seuil, que nous n'avons pas encore pu mettre en place, l'importance des termes hors diagonaux dans la différence entre les deux indicateurs). La dépolarisation moyenne paraît finalement a priori la plus fiable.

Nous constatons par ailleurs que la dépolarisation, qu'elle soit moyenne ou diagonale, n'est pas constante dans le temps, et ce même sur la zone saine sur laquelle on observe une légère tendance à l'augmentation de la dépolarisation. Cette tendance peut être attribuée à une évolution de l'état général de l'animal, sans qu'on puisse dire pour l'instant s'il s'agit d'un processus physiologique (vieillessement de la peau par exemple) ou pathologique (induit par l'irradiation). Ainsi, nous ne pouvons que continuer à utiliser comme référence la mesure sur la zone saine, et comme outil diagnostique la différence de la mesure sur la zone irradiée par rapport à la pre-

mière. L'évolution de cette différence entre la zone irradiée et la zone saine apparaît de manière plus claire sur le graphe 4.42.

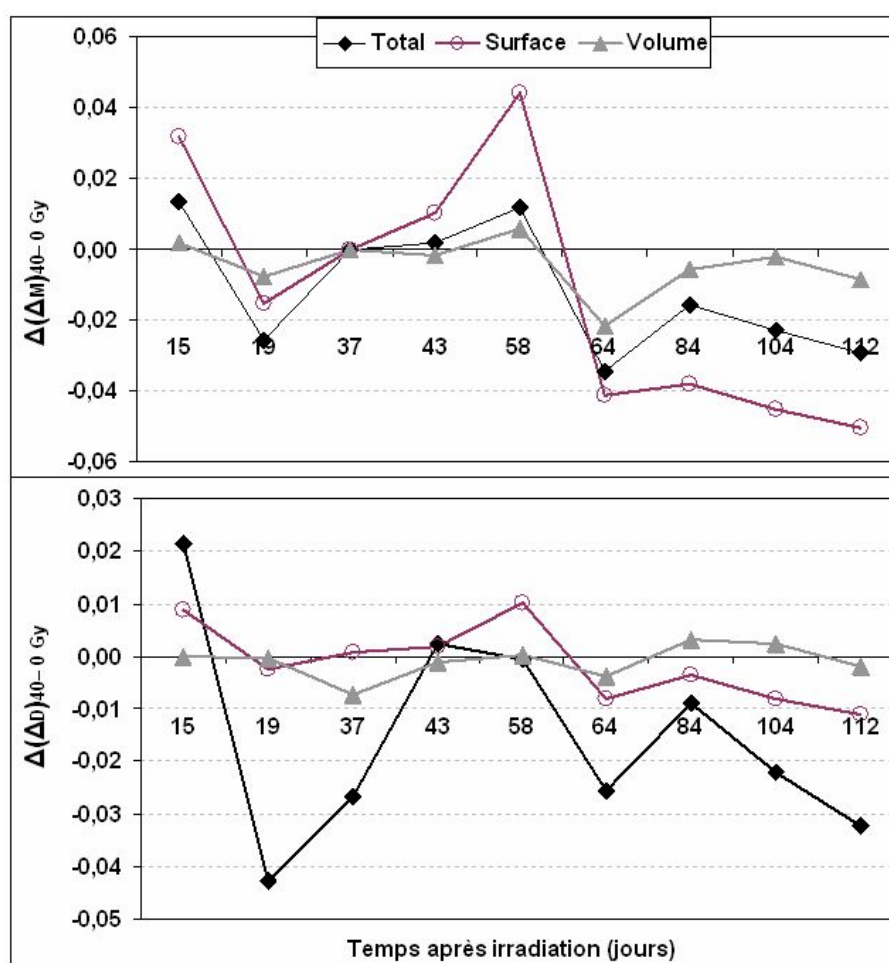


FIG. 4.42 – Différence respectivement de la dépolarisation moyenne (en haut) et diagonale (en bas) entre une zone irradiée à 40 Gy et une zone saine sur le même porc, mesurées in-vivo à 500 nm à différents délais après irradiation.

Cette différence est plus intense pour le cas de la dépolarisation moyenne, et elle apparaît plus accentuée sur les pixels de la surface, tandis que quant à la dépolarisation diagonale, c'est le calcul sur l'ensemble de pixels de l'image qui donne les contrastes les plus importants entre la zone irradiée et la zone saine. Dans les deux cas, nous pouvons distinguer trois périodes :

1. Une période entre les jours 15 et 43 après irradiation, où la partie irradiée dépolarise moins que la partie saine de la peau, ce qui est en accord avec des résultats déjà publiés sur des mesures ex-vivo de biopsies de peau de porc irradié [61],
2. Une période entre les jours 43 et 64 après irradiation, où la situation se renverse, et la partie irradiée dépolarise plus que la partie saine de la peau, et
3. Une deuxième période où la partie irradiée dépolarise moins que la partie saine de la peau, entre le jour 64 et 112 après irradiation.

Ces observations pourraient correspondre à :

1. Une première phase aiguë, quelques jours après irradiation pendant laquelle le collagène est détruit,
2. Une période de latence entre les jours 43 et 64 où le collagène se régénère avec un taux de croissance significativement plus important que dans la partie saine de l'animal, comme cela a été déjà observé dans la littérature [54] et

3. Une deuxième phase aiguë plus tardive, qui démarre au jour 64 après irradiation, avec de nouveau une diminution significative du collagène dans la partie irradiée.

Ce comportement d'alternance des périodes de latence entre des phases aiguës est typique de la réaction de la peau au rayonnement. Cette observation est en accord avec des résultats déjà observés en littérature chez le porc irradié à 32 Gy (graphe 4.13). Même si ni la source de rayonnement γ , ni la race du porc est la même pour pouvoir faire une comparaison quantitative, néanmoins, le comportement de la peau est exactement le même : on a une réaction précoce et une réaction tardive, séparées par une période de latence un peu près à la même échelle temporelle que dans notre étude.

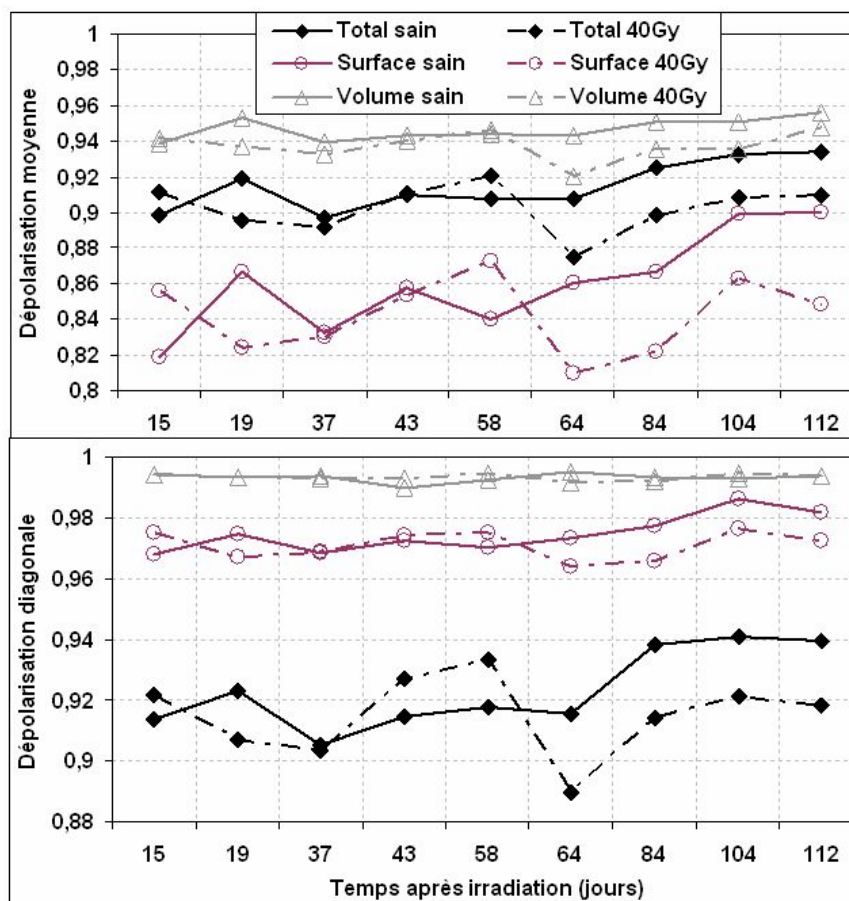


FIG. 4.43 – Dépolarisation moyenne (en haut) et diagonale (en bas) mesurées in-vivo à 700 nm sur un porc irradié à 40 Gy à différents délais après irradiation.

A 500 nm, la lumière n'atteint pratiquement que l'épiderme et les couches superficielles du derme (figure 4.11(b)). Par conséquent, tous les phénomènes que nous avons observés jusqu'à maintenant, doivent être liés à la destruction et la régénération de l'épiderme, d'une part et des couches supérieures du derme d'autre part. Quant à l'épiderme, ce sont les kératinocytes, les cellules responsables de la formation de la kératine, qui sont notamment impliqués dans ces deux procédures, tandis que dans le derme, ce sont les fibroblastes, les cellules produisant les fibres de collagène. Ainsi, nous sommes amenés à penser qu'à cette longueur d'onde nous sommes sensibles à la dépolarisation induite par les fibres de kératine d'une part et les fibres de collagène d'autre part. Nous rappelons que l'évolution de la biréfringence de la kératine, ainsi que du collagène, suite à des brûlures thermiques a été déjà observé en OCT couplé avec la polarimétrie [59].

A 700 nm, vu que la lumière pénètre plus profondément dans les tissus, la dépolarisation (moyenne et diagonale) est plus élevée par rapport aux mesures à 500 nm. A cette longueur

d'onde la lumière arrive jusqu'aux couches profondes du derme, et nous sommes plus sensibles aux modifications de la quantité et de la structure du collagène dermique profond. Néanmoins, les résultats confirment les mêmes tendances. Nous avons toujours les mêmes phases distinguées sur les mesures de la dépolarisation (moyenne et diagonale).

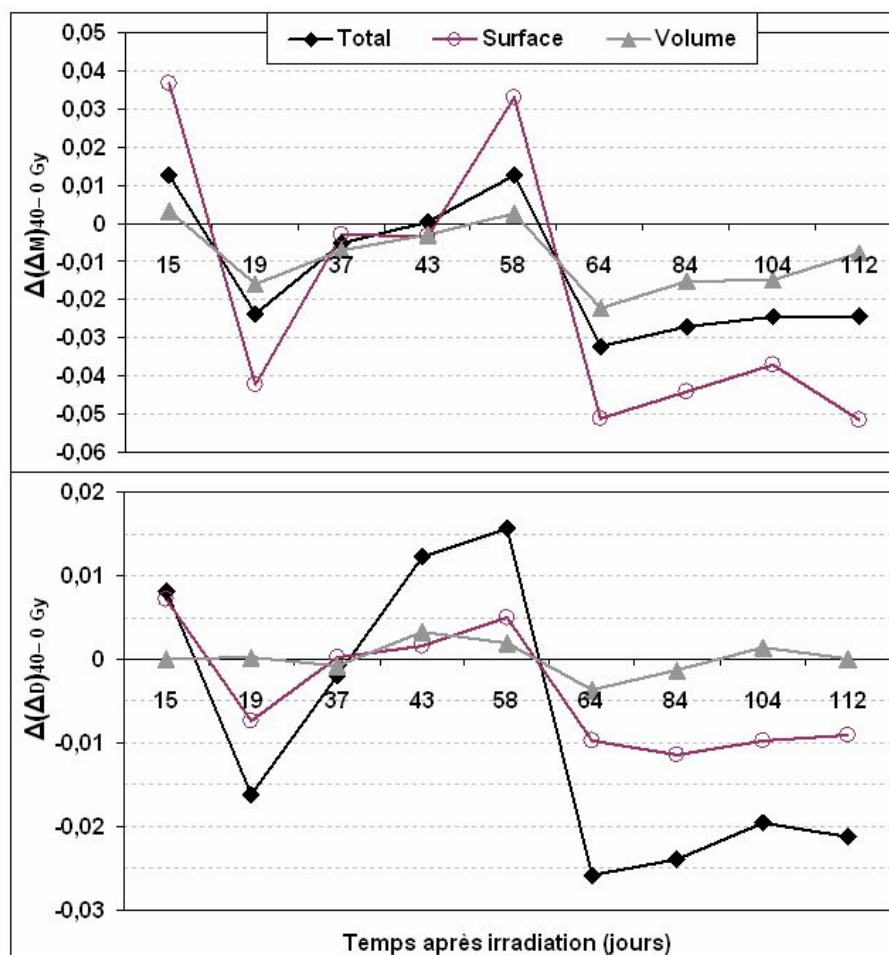


FIG. 4.44 – Différence respectivement de la dépolarisation moyenne (en haut) et diagonale (en bas) entre une zone irradiée à 40 Gy et une zone saine sur le même porc, mesurées in-vivo à 700 nm à différents délais après irradiation.

Taux de mémoire

Quant au taux de mémoire représenté sur la figure 4.45 pour le 500 nm et sur la figure 4.46 pour le 700 nm, nous constatons qu'il est toujours inférieur à l'unité, alors, $DOP_C < DOP_L$, ce qui est caractéristique du régime de diffusion de Rayleigh [16], ce qui est attendu pour notre configuration de mesure en rétro-diffusion.

Nous n'observons aucune différence significative entre la zone irradiée et la zone saine, sauf éventuellement une baisse légère du taux de mémoire de la zone irradiée par rapport à la zone saine à partir du jour 84 pour la longueur d'onde de 500 nm, et à partir du jour 64 pour 700 nm. Si nous raisonnons en terme de taille des diffuseurs, cette diminution signifierait une diminution de la taille des diffuseurs dans le tissu irradié, ou respectivement une augmentation de la taille des diffuseurs dans le tissu sain. Le fait que cet effet est plus marqué pour les grandes longueurs d'onde, dévoilerait un processus de changement de taille des diffuseurs démarrant des couches profondes du derme, et influençant par la suite l'évolution des couches supérieures jusqu'à l'épiderme. Le fait que la réparation de l'épiderme est conditionnée par la réparation des couches sous-jacents est déjà connu dans la littérature [38].

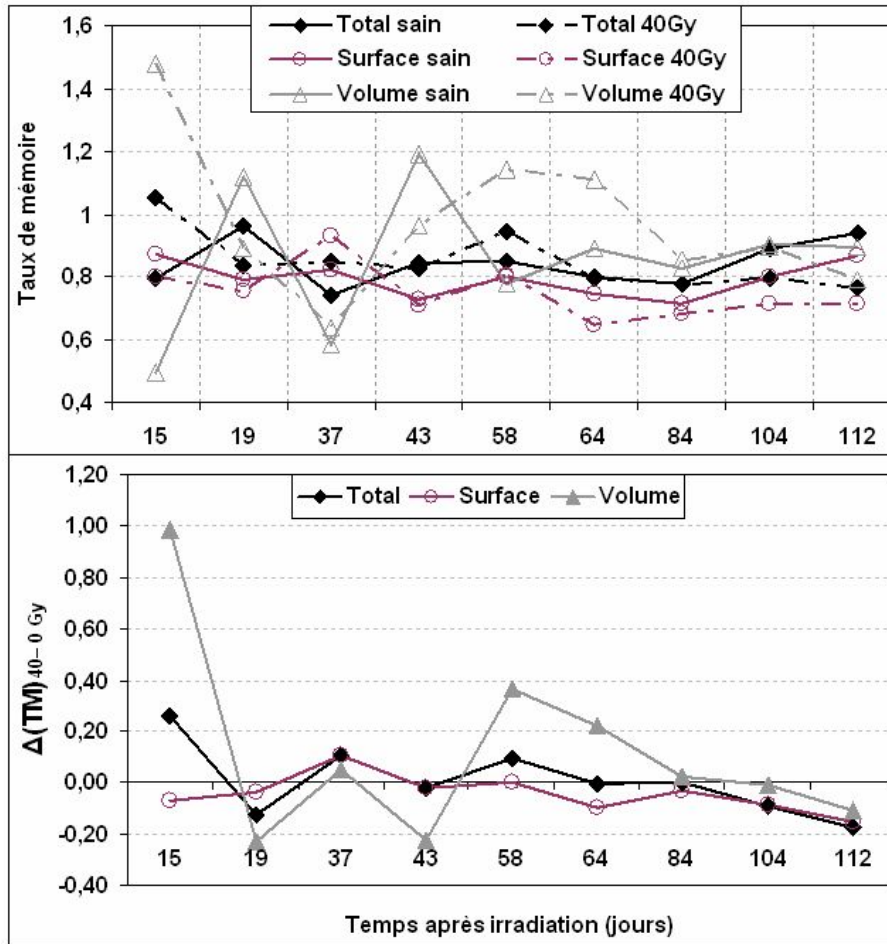


FIG. 4.45 – Taux de mémoire mesuré in-vivo à 500 nm sur un porc irradié à 40 Gy à différents délais après irradiation (en haut), et différence du taux de mémoire entre la zone irradiée et la zone saine (en bas).

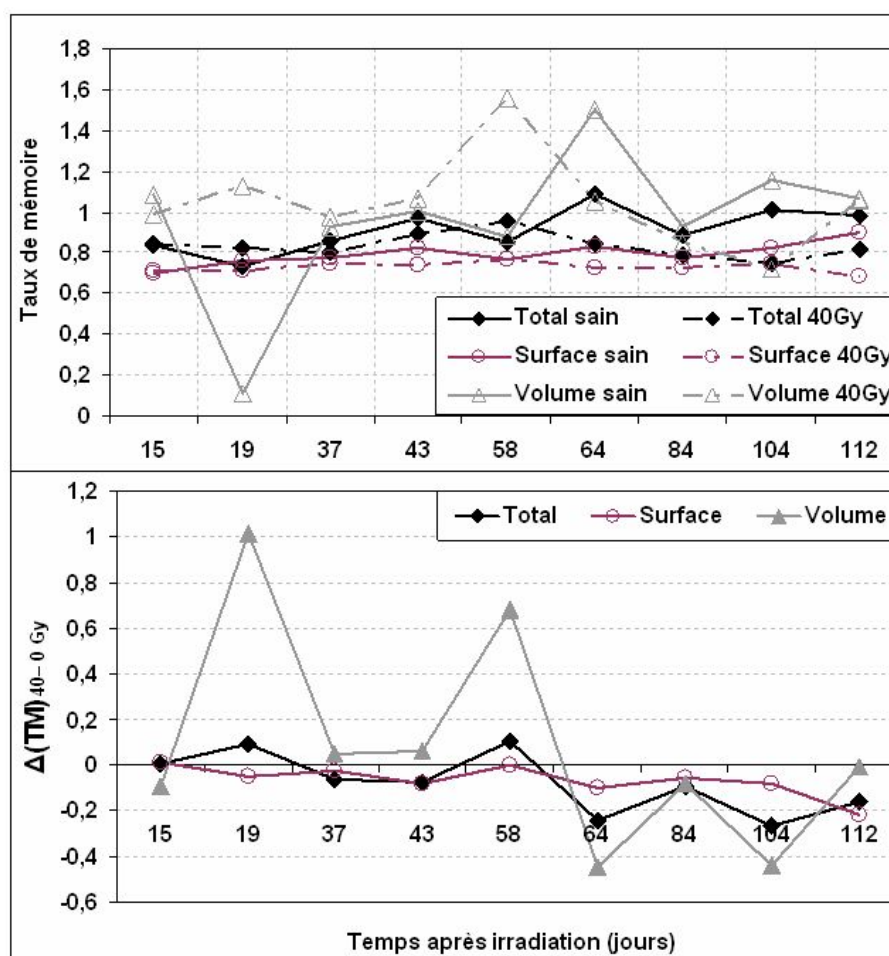


FIG. 4.46 – Taux de mémoire mesuré in-vivo à 700 nm sur un porc irradié à 40 Gy à différents délais après irradiation (en haut) et différence du taux de mémoire entre la zone irradiée et la zone saine (en bas).

Degré de polarisation

Le degré de polarisation linéaire et circulaire pour la zone irradiée et la zone saine sont représentés sur le graphe 4.47. Pour les deux cas, le degré de polarisation calculé à partir des pixels uniquement de la surface est toujours supérieur (mémoire de polarisation élevée) de celui qui correspond à l'ensemble de pixels de l'image, qui est de son côté supérieur du degré de polarisation calculé à partir des pixels uniquement du volume (mémoire de polarisation plus faible).

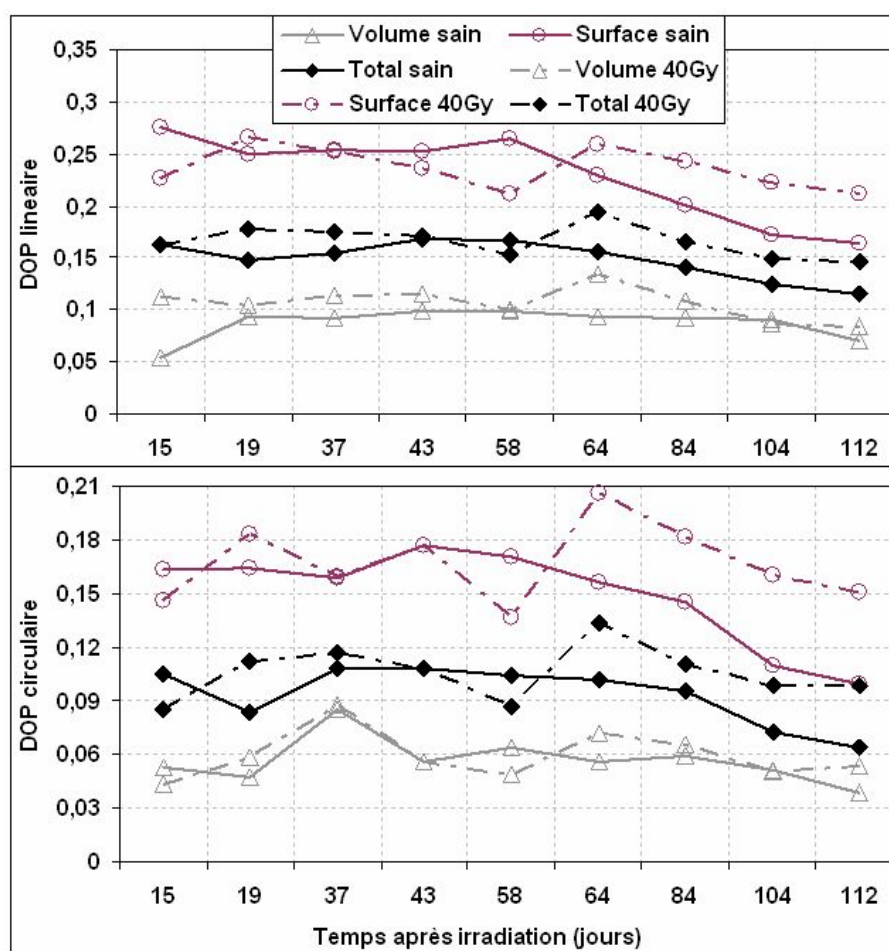


FIG. 4.47 – Degré de polarisation linéaire (en haut) et circulaire (en bas) mesuré in-vivo à 500 nm sur un porc irradié à 40 Gy à différents délais après irradiation.

Nous pouvons remarquer que le degré de polarisation même pour la zone saine évolue au cours du temps, ce qui doit être encore du à l'évolution de l'état général de l'animal. Mais ce qui est plus intéressant, c'est l'évolution de sa différence par rapport à la zone irradiée après irradiation, représentée sur le graphe 4.48.

Nous retrouvons les trois phases d'évolution que nous avons vu sur les mesures de dépolarisation :

1. Une période entre 15 et 43 jours après irradiation, où le DOP (linéaire et circulaire) est supérieur pour la zone irradiée par rapport à la zone saine, ou autrement dit, la zone irradiée dépolarise moins,
2. Une période entre les jours 43 et 64 après irradiation, où le DOP de la zone irradiée est inférieur à celui de la zone saine, et
3. Une dernière période entre les jours 64 et 112 après irradiation, où nous retrouvons le

DOP de la zone irradiée supérieur à celui de la zone saine.

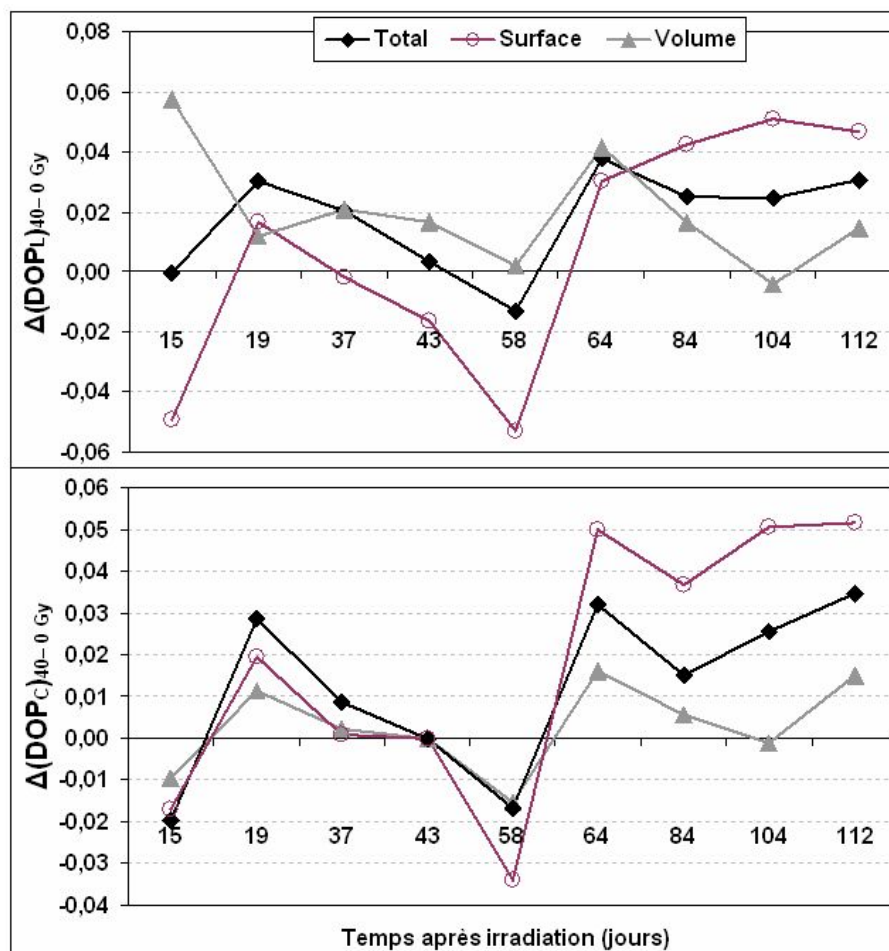


FIG. 4.48 – Différence respectivement du degré de polarisation linéaire (en haut) et circulaire (en bas) entre une zone irradiée à 40 Gy et une zone saine sur le même porc, mesurés in-vivo à 500 nm à différents délais après irradiation.

Les tendances sont les mêmes à 700 nm, avec une diminution globale du DOP (linéaire et circulaire), vu qu'à cette longueur d'onde la lumière rentre plus profondément dans les tissus, en dépolarisant plus.

Cette observation est importante, car si avec le DOP nous pouvons distinguer de même un tissu sain par un tissu irradié comme avec la dépolarisation, néanmoins, la mesure du DOP est largement plus rapide que le calcul de la première, qui exige la mesure entière de la matrice de Mueller. Effectivement, pour la mesure du DOP nous n'avons besoin de l'acquisition que de deux images ($I_{||}$ et I_{\perp} pour un DOP linéaire ou I_{LL} et I_{RL} pour un DOP circulaire) et non pas d'au moins seize, qui sont nécessaires pour la mesure de la matrice de Mueller. De cette manière, nous pouvons effectuer une mesure en temps réel, de manière analogue à ce que nous avons mis en place pour un autre type d'application (le diagnostic du cancer du col de l'utérus) décrite au chapitre suivant. De plus, la mesure du DOP nécessite une optique beaucoup plus simple et moins lourde que la mesure de la matrice de Mueller, ce qui faciliterait le développement d'un appareil transportable.

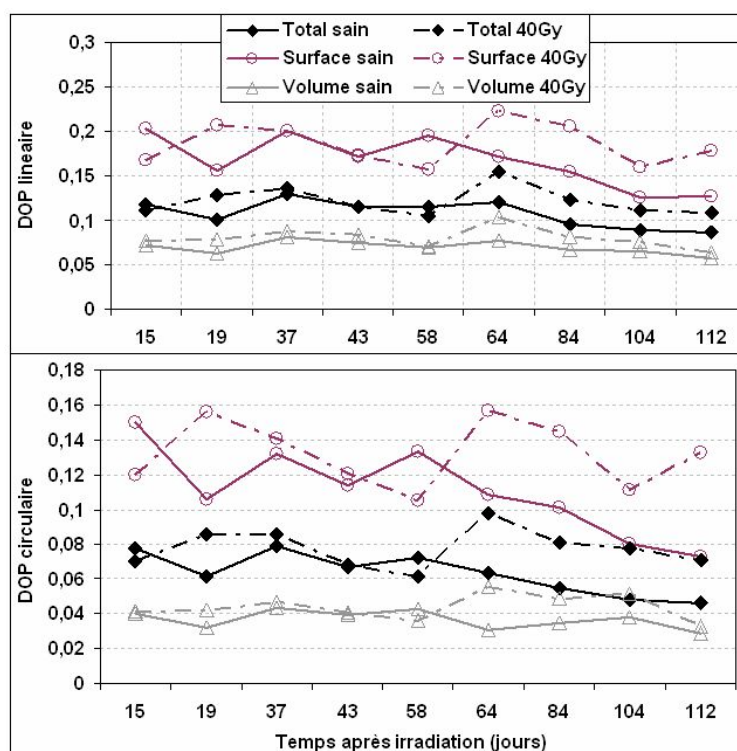


FIG. 4.49 – Degré de polarisation linéaire (en haut) et circulaire (en bas) mesuré in-vivo à 700 nm sur un porc irradié à 40 Gy à différents délais après irradiation.

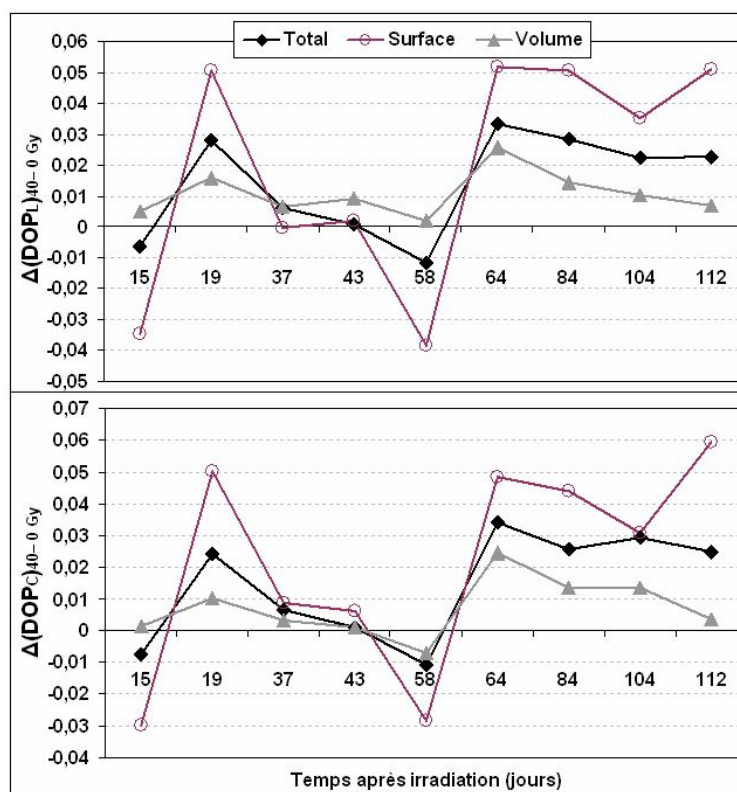


FIG. 4.50 – Différence respectivement du degré de polarisation linéaire (en haut) et circulaire (en bas) entre une zone irradiée à 40 Gy et une zone saine sur le même porc, mesurés in-vivo à 700 nm à différents délais après irradiation.

4.9 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté une première évaluation de l'*imagerie polarimétrique*, ex vivo et in vivo dans le diagnostic des brûlures radiologiques, dans le prolongement d'études antérieures limitées à des mesures sans imagerie d'échantillons ex vivo [61]. Pour cela nous avons utilisé un modèle animal développé au Centre de Recherche du Service de Santé des Armées près de Grenoble. Une série de mesures à plusieurs longueurs d'onde ont été effectuées sur des biopsies de peau irradiées, à différents doses et délais après irradiation. Malgré la grande variabilité inter-individus, les biopsies irradiées se sont avérées moins dépolarisantes que les tissus sains, en accord avec les résultats précédents, mais il ne semble pas possible pour l'instant de définir une technique de dosimétrie quantitative à partir de ces mesures. La rugosité de la surface a été prise en compte par une technique de seuillage permettant de différencier les pixels en fonction de leur caractère plus ou moins dépolarisé, et de séparer de cette manière des contributions de "surface" et de "volume". En parallèle, nous avons suivi in vivo l'évolution d'une zone irradiée sur un même animal pendant les premiers mois après irradiation. Il a fallu pour cela mettre au point une technique de recalage originale permettant d'éliminer les artéfacts importants liés aux mouvements respiratoires pendant l'acquisition. En prenant comme référence des mesures sur une zone saine, nous avons confirmé que la dépolarisation peut être un indicateur intéressant pour le diagnostic de ce type des brûlures, les pixels de "surface" et de "volume" ayant le même comportement en fonction de la dose, mais avec un meilleur contraste pour les premiers. De plus, une mesure simple du degré de polarisation pourrait être tout aussi significative, ce qui faciliterait le développement d'une instrumentation adéquate en temps réel.

Chapitre 5

Application au diagnostic du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col de l'utérus est le troisième cancer féminin en taux de mortalité en France, après le cancer du sein et le cancer colorectal [64]. Il survient le plus souvent chez la femme jeune, avant la ménopause et il est également fréquent dans les pays sous-développés [65]. En effet, il se développe à partir de lésions dites pré-cancéreuses, causées, contrairement à la plupart de types de cancer, par certains virus, les papillomavirus (terme provenant du latin "*papilla = pustule*" et de la terminaison grecque "*oma = suffixe indiquant une tumeur*" [66]). Le papillomavirus est un virus transmis par l'homme, mais il s'exprime uniquement chez la femme. En France, en 2000, l'incidence du cancer du col de l'utérus est estimée à 3 387 nouveaux cas [67] avec une survie à cinq ans de 70 % [68]. Il est responsable de 741 décès par an en 2003 (684 pour 2000), ce qui représente 1,2 % de la mortalité par cancer [69], mais on considère que près de 90 % de ces décès pourraient être évités avec un dépistage régulier.

Le Pap test et l'examen colposcopique ont permis une réduction de l'incidence du cancer invasif du col et de la mortalité associée. Bien qu'il soit relativement simple à réaliser, l'efficacité de cet examen est limitée par un taux de 15 à 40 % de faux positifs, ce qui conduit à réaliser un nombre élevé de colposcopies, souvent inutiles [70]. Quant à l'examen colposcopique, sa fiabilité est hautement dépendante de l'expertise du clinicien. Comme on le verra plus en détail plus loin, des valeurs très diverses de la sensibilité ont été rapportées pour cet examen, mais il y a un large consensus pour reconnaître que la spécificité n'est que de l'ordre de 50 %. Cette situation conduit à réaliser un grand nombre de biopsies pour confirmer la présence des lésions. L'analyse par biopsie, qui comprend à la fois les procédures de prélèvement tissulaire, les traitements histologiques et l'analyse microscopique par un pathologiste confirmé, augmente considérablement les coûts associés à l'examen colposcopique et les délais de traitement. Il existe donc un réel besoin de méthodes de dépistage et diagnostic plus objectives, plus spécifiques et moins coûteuses, pour diminuer le nombre de biopsies inutiles, améliorer l'efficacité de la détection en temps réel et accélérer la prise de décision thérapeutique.

Pour répondre à ce besoin, plusieurs méthodes, notamment optiques, ont été développées ces dernières années. La plupart de ces méthodes sont encore au stade expérimental, mais nombre d'entre elles sont en train de (ou devraient rapidement) entrer dans la pratique médicale.

Pour notre part, nous avons commencé l'évaluation clinique de l'intérêt de l'imagerie polarimétrique comme technique de visualisation alternative ou complémentaire de l'examen colposcopique classique.

5.1 Cancer du col de l'utérus : descriptif de la maladie

Le col utérin est la portion fibromusculaire basse de l'utérus (figure 5.1). Il est de forme cylindrique ou conique, et mesure de 3 à 4 cm de long pour 2,5 cm de diamètre¹.

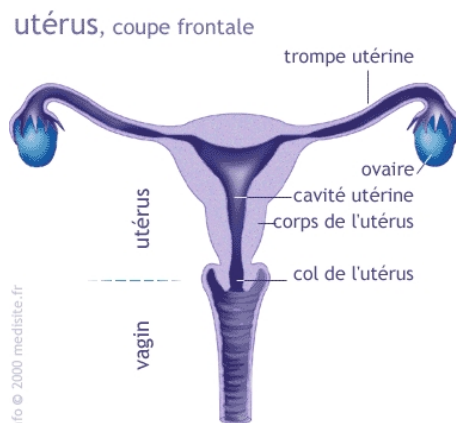


FIG. 5.1 – L'appareil reproductif féminin.

Le cancer du col de l'utérus s'appelle en terminologie médicale "*épithélioma*", terme qui provient de l'épithélium, la partie superficielle du col et la terminaison grecque "*-oma*", pour signaler une forme de cancer. La partie extérieure du col, l'*exocol* est tapissé par un épithélium pavimenteux stratifié de couleur rose constitué de plusieurs couches de cellules (l'épithélium *malpighien*), tandis que la partie intérieure, l'*endocol* est tapissé par un épithélium cylindrique de couleur rouge constitué d'une seule couche de cellules (l'épithélium *cylindrique* ou *glandulaire*). Les couches cellulaires intermédiaires et superficielles de l'épithélium pavimenteux contiennent du glycogène.

Entre l'exocol et l'endocol, existe une *zone de jonction* qui est la zone fragile où débute en général la cancérisation [71]. Cette fragilité est due au fait que pendant l'adolescence, l'augmentation du niveau des hormones ovariennes étire l'épithélium endocervical jusqu'à la partie extérieure du col, au vagin (figure 5.2). L'environnement vaginal, étant beaucoup plus acide chez les femmes en âge de procréer (et encore plus pendant la grossesse), s'avère hostile pour cet épithélium délicat. Par contre, après la ménopause, l'épithélium endocervical se retire vers l'intérieur du canal cervical et le col prend de nouveau une forme pré-adolescente.

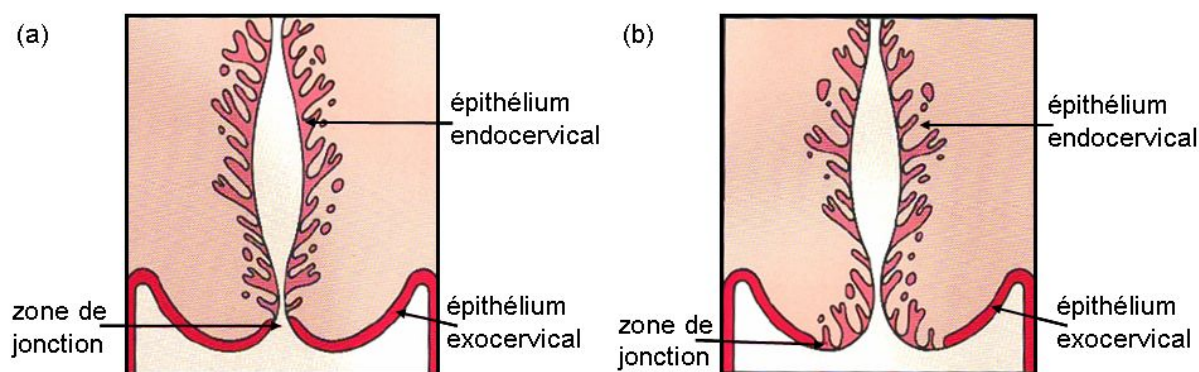


FIG. 5.2 – La zone de jonction d'un col pré-adolescent (a) et post-adolescent (b) [71].

L'épithélium se compose d'une couche superficielle et d'une couche profonde. Ces deux couches sont séparées par une formation histologique appelée lame basale. Le cancer commence

¹Information issue du site internet <http://screening.iarc.fr>.

par les cellules au niveau de la membrane basale et il attaque progressivement les cellules supérieures (figure 5.3). Cette évolution est lente et elle peut durer une dizaine d'années (figure 5.4) à partir de l'apparition de la lésion pré-cancéreuse. C'est pour cette raison qu'avec un dépistage régulier on peut le diagnostiquer et le traiter à temps.

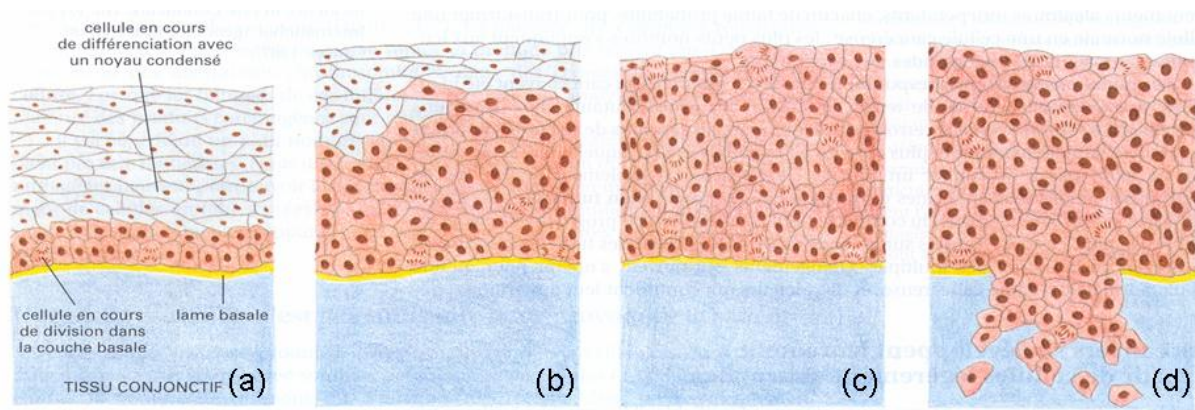


FIG. 5.3 – Evolution du cancer du col de l'utérus : CIN I (a), CIN II (b), CIN III (c) et cancer invasif (d)¹.

Ces anomalies intra-épithéliales sont classées selon leur niveau en *neoplasie cervicale intra-épithéliale* de différents grades : CIN I, II et III, pour le terme anglais "*Cervical Intraepithelial Neoplasia*". Quand les anomalies n'affectent que le quart inférieur de l'épithélium on parle de CIN I (a). Quand ces anomalies atteignent un à deux tiers de l'épithélium, on parle de CIN II (b). Dans le cas du CIN III les anomalies atteignent jusqu'au quart supérieur de l'épithélium et elles peuvent occuper même sa totalité (c).

Lorsque la lame basale n'est pas touchée, seules les cellules épithéliales sont modifiées ; il s'agit d'un *épithélioma intra-épithélial* ou *épithélioma pré-invasif* ou *cancer au stade 0* ou *cancer in situ* (termes anciens qui ont été remplacés par l'échelle de CIN). Lorsque les cellules cancéreuses ont perforé la lame basale et envahi le tissu conjonctif sous-jacent, il s'agit d'un *cancer invasif* (d). Un cancer invasif peut créer des métastases. Pour le cancer du col de l'utérus les métastases les plus fréquentes se présentent aux ganglions, aux os, aux poumons et au foie².

En ce qui concerne la progression des CIN de bas grade aux CIN de haut grade, il a été démontré qu'une néoplasie légère ou moyenne, va soit progresser vers une forme plus grave, soit régresser [72]. La régression est plus probable pour les formes les plus légères. En plus, il y a des preuves que le fait d'effectuer des biopsies favorise ce processus [71].

Les facteurs favorisant ce type de cancer sont [73] :

- les infections vaginales et cervicales (infections à *human papillomavirus* HPV et notamment du type HPV 6, HPV 11, HPV 16 et HPV 18³, et favorisées par la précocité des rapports sexuels et le changement fréquent de partenaires)
- le tabagisme
- l'immunosuppression.

¹Présentation du Dr. Philippe Vielh dans le cadre du module "Thérapeutiques Anti-Tumorales" de la formation de l'Institut de Formation Supérieure BioMédicale.

²Communication privée du cancérologue Dr. Laurent Schwartz.

³Les types 6 et 11 provoquent notamment des verrues anogénitales bénignes ou des condylomes acuminés. Ils sont aussi associés avec des lésions intraépithéliales malpighiennes de bas grade (LSIL, acronyme du terme anglais "*Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion*", défini par la suite), mais très rarement avec des lésions de haut grade (HSIL, acronyme pour le terme anglais "*High-grade Squamous Intraepithelial Lesion*"), ou des cancers malpighiens invasifs. En revanche, HPV 16 est le virus le plus probable à infecter le col de l'utérus et il est très fortement lié avec tous types de néoplasie intraépithéliale et malpighienne invasive. HPV 18 est l'autre prototype

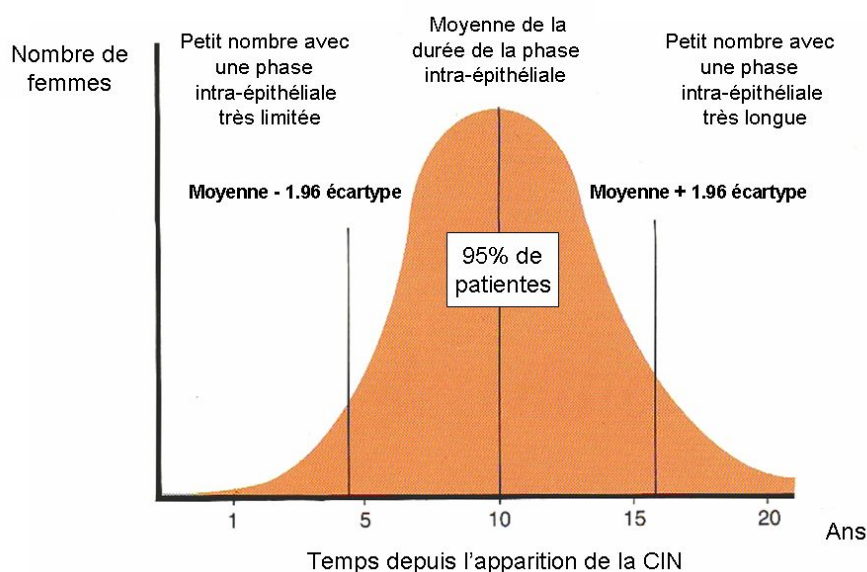


FIG. 5.4 – Temps écoulé entre l'apparition de la CIN et le cancer invasif [71].

5.2 Diagnostic du cancer du col de l'utérus : la pratique actuelle

Le diagnostic du cancer du col de l'utérus dans la pratique actuelle se fait en plusieurs étapes : on commence par un dépistage pratiqué tous les ans ou tous les deux ans et qui est basé sur l'examen cytologique (*frottis*) ou "*test Papanicolaou*" si on utilise le terme médical. Dans le cas où le frottis est anormal, le médecin procède à un examen colposcopique. Si le col présente des zones suspectes il réalise une ou plusieurs biopsies selon le nombre de ces zones. Finalement, si les résultats des biopsies sont positifs, il procède à l'exérèse ("*conisation*") de la partie pathologique du col.

Chacune de ces étapes est décrite plus en détail dans les paragraphes qui suivent. Mais d'abord, nous allons donner la définition générale des indicateurs de performance utilisés pour évaluer une technique de diagnostic.

5.2.1 Indicateurs de performance d'un examen diagnostique

Ces indicateurs sont au nombre de quatre [74] :

1. La *sensibilité* représente la fréquence du signe dans la maladie. Elle s'exprime par le rapport du nombre de vrais positifs au nombre total de malades.
2. La *spécificité* se définit en termes de nombre de sujets indemnes correctement identifiés et s'exprime par le rapport du nombre de vrais négatifs au nombre total de sujets indemnes.
3. La *valeur prédictive positive* est la probabilité que le sujet soit réellement malade lorsqu'il présente le signe étudié.
4. La *valeur prédictive négative* est la probabilité de l'absence de la maladie si le signe fait défaut.

du virus associé au cancer, notamment aux néoplasies cervicales non malpighiennes [73]. Si on admet que les HPV jouent un rôle important dans l'initiation des cancers du col de l'utérus, on sait en revanche qu'ils ne sont pas suffisants pour induire la transformation cancéreuse. Pour cela, ils ont besoin d'autres oncogènes actifs, et il est possible que cette activation est encouragée par la présence des HPV dans le génome des cellules cancéreuses [65] [66] [72].

Leur définition par rapport au nombre de vrais positifs, vrais négatifs, faux positifs et faux négatifs d'une étude statistique est résumée dans le tableau 5.1.¹

| Sensibilité | Spécificité | Valeur Prédictive Positive | Valeur Prédictive Négative |
|--------------------|--------------------|----------------------------|----------------------------|
| $\frac{VP}{VP+FN}$ | $\frac{VN}{VN+FP}$ | $\frac{VP}{VP+FP}$ | $\frac{VN}{VN+FN}$ |

TAB. 5.1 – Paramètres de qualité d'un examen diagnostique. VP=Vrais Positifs, VN=Vrais Négatifs, FP=Faux Positifs, FN=Faux Négatifs.

5.2.2 Examen cytologique

L'examen cytologique porte sur un échantillon de cellules provenant du canal endocervical, ainsi que de l'exocol, prélevées à l'aide d'une spatule ou d'une brosse médicale [71]. Cet échantillon est ensuite étalé sur une lame de verre et rapidement fixé² (à l'éthanol par exemple) pour éviter le contact avec l'air et la perte conséquente de détails vitaux des cellules. Finalement, la lame est étudiée au microscope, après une coloration adéquate (figure 5.5).

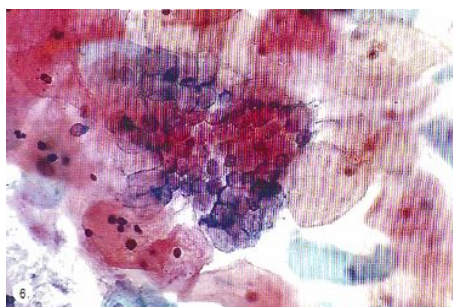


FIG. 5.5 – Image au microscope d'un frottis normal au colorant Papanicolaou, agrandissement x 128 [71].

Les six types d'anomalies cytologiques du Système de Bethesda 2001 sont [75] [76] :

1. **ASC-US** : les atypies des cellules malpighiennes de signification indéterminée qui correspondent à des anomalies mal définies des cellules superficielles.
2. **ASC-H** : les atypies des cellules malpighiennes ne permettant pas d'exclure une lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade correspondant à des anomalies mal définies des cellules basales.
3. **LSIL** : les lésions malpighiennes intraépithéliales de bas grade qui sont caractérisées par la présence de koilocytes et qui régissent spontanément dans la moitié des cas.
4. **HSIL** : les lésions malpighiennes intraépithéliales de haut grade qui sont caractérisées par des anomalies nucléaires marquées des cellules basales et qui sont des lésions précancéreuses directes.
5. **ASC** : les atypies des cellules glandulaires.
6. Les **carcinomes**.

¹Il faut garder présent à l'esprit que ces indicateurs sont définis par rapport à un "Gold Standard", autrement dit une technique de référence dont les résultats sont réputés fiables. Une telle technique n'est malheureusement pas toujours disponible ou facile à mettre en œuvre aussi souvent qu'on le souhaiterait pour les besoins de la statistique.

²La fixation est le procédé utilisé pour tuer les cellules tout en s'efforçant d'en conserver les structures.

La décision de procéder ou pas à un examen colposcopique est basée notamment sur l'étude du frottis. Dans le cas d'un frottis anormal, le médecin procède à un examen colposcopique, en sachant que pour les petites anomalies on préfère d'abord répéter le frottis deux ou trois fois (maximum). Seulement dans le cas où l'anomalie persiste, on réalise un examen colposcopique. Cela évite l'angoisse de la patiente, qui dans ce cas est plus importante que le risque qu'elle puisse parcourir, en sachant que ces anomalies puissent régresser [71].

Pourtant, l'interprétation d'un frottis satisfaisant¹ n'est pas évidente [77]. Le diagnostic et la classification de la néoplasie est réalisée par une combinaison de critères morphologiques² bien distincts en apparence, mais en réalité intercorrélés et assez subjectifs. Des études ont démontré que le même investigateur peut interpréter une lame de néoplasie cervicale intra-épithéliale différemment à différentes occasions [71].

Une difficulté essentielle de la technique du frottis est liée au fait qu'on étudie des cellules individuelles, alors que le caractère cancéreux ou non d'un tissu est déterminé non seulement par les caractéristiques des cellules qui le composent, mais aussi et surtout par leur arrangement spatial, qui n'est révélé que par l'examen des biopsies. Plusieurs études ont démontré que 22 % de patientes avec un frottis qui révèle une dyskaryose légère, ont finalement une CIN III d'après la colposcopie et la biopsie [71]. De plus, le frottis n'apporte aucune information sur la localisation de la lésion éventuellement présente.

Ces dernières années ont vu l'apparition de nouvelles techniques dans les laboratoires de cytologie, afin d'améliorer la spécificité du diagnostic. Une étude en microscopie de fluorescence [78] a permis de mettre en évidence une différence de localisation de la fluorescence entre cellules en activité (dont les cellules tumorales) caractérisées par une fluorescence périmembranaire, et cellules au repos pour lesquelles la fluorescence est intramembranaire. De cette manière, même les cellules caractérisées comme atypiques par les cytologistes peuvent être identifiées comme normales ou cancéreuses, selon la localisation de leur fluorescence. Les mesures spectrales et de durées de vie de fluorescence ont permis de certifier que cette signature spectroscopique spécifique n'était pas due à l'émission des fluorophores endogènes, mais à celles des colorants usuels du Papanicolaou.

5.2.3 Examen colposcopique

Le colposcope (figure 5.6) est un microscope binoculaire de grossissement faible qui permet la visualisation du col de l'utérus. Il a été inventé en 1925 par Hinselmann qui croyait à l'époque que s'il arrivait à agrandir l'image du col avec un appareil optique, il pourrait diagnostiquer le cancer à un stade précoce. Il s'est rapidement aperçu que ses suppositions étaient trop optimistes, néanmoins, son appareil a rendu possible l'observation de changements anormaux sur l'épithélium cervical. De nos jours, le colposcope est utilisé en complément de l'examen cytologique.

L'examen colposcopique comporte trois étapes [71] :

1. Tout d'abord l'examen sans application de colorants pour une première inspection du col de la patiente.
2. Ensuite, l'examen après l'application d'*acide acétique* à 3 %. L'acide acétique provoque la turgescence de l'épithélium endocervical et de l'épithélium anormal. Plus particulièrement, les zones anormales de l'épithélium blanchissent et cela permet de les distinguer par rapport aux tissus sains. Traditionnellement, on croyait que ce blanchissement était lié à

¹Un frottis satisfaisant est un frottis qui a été réalisé soigneusement et qui ne présente pas de problèmes de manque de cellules endocervicales, étalement trop épais, séchage à l'air avant la fixation etc.

²Les critères utilisés sont : le niveau de différenciation, de maturation et de stratification des cellules, les anomalies au niveau des noyaux et du cytoplasme, le comportement mitotique etc.

³Photo issue du site internet <http://www.olympusamerica.com/>.

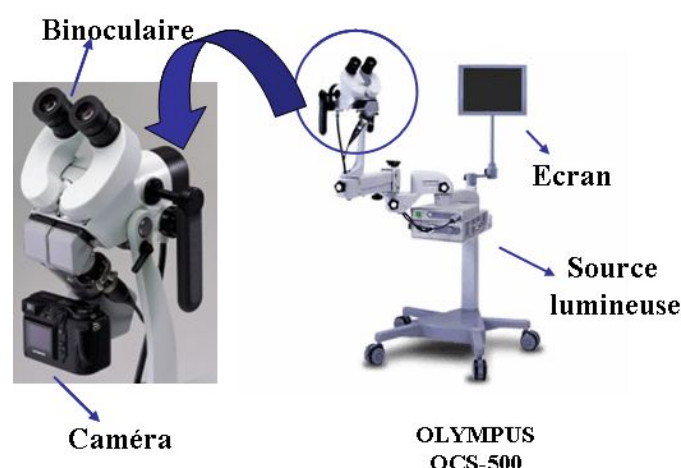


FIG. 5.6 – Exemple d'un colposcope commercial, Olympus OCS-500 (à droite) avec grossissement de son binoculaire (à gauche)³.

la quantité de la protéine nucléaire présente dans les tissus et dont l'acide provoquerait la coagulation. De fait, on a montré par microscopie confocale qu'en présence d'acide acétique les noyaux deviennent plus visibles, donc plus rétrodiffusants [79] [80]. Par conséquent, la lumière pénètre moins dans les tissus. Il faut noter que cet effet disparaît après 30-40 secondes, ce qui indique qu'il ne s'agit sans doute pas d'une dénaturation des protéines (comme par la chaleur), qui serait irréversible.

3. Enfin, on applique une solution d'iode (*lugol*). Ce test est basé sur le fait que l'épithélium normal est caractérisé par une abondance de glycogène, tandis que l'épithélium pathologique en contient beaucoup moins en raison du métabolisme élevé typique des tissus tumoraux. Par conséquent, la solution d'iode colorera en rouge (ou marron sombre) essentiellement les zones saines. Malgré tout, les faux positifs au lugol sont assez fréquents, vu que certaines variations d'un épithélium normal, comme le métaplasie immature et la zone de jonction congénitale, ne se colorent pas non plus à l'iode.

La figure 5.7 montre l'aspect colposcopique d'un col normal et d'un col pathologique sans coloration, ainsi qu'après l'application d'acide acétique et de Lugol.

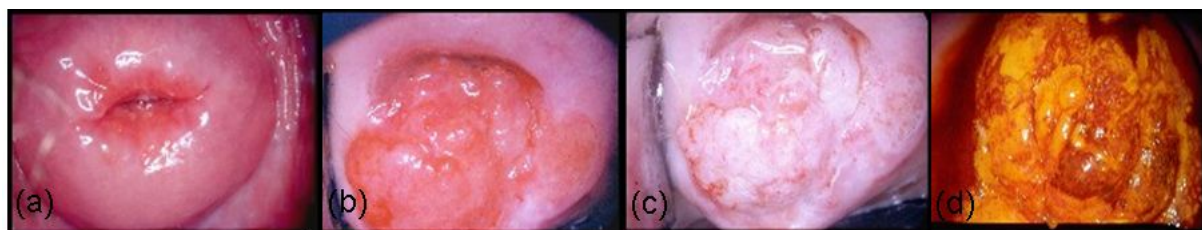


FIG. 5.7 – Epithélium normal sans application (a), adénocarcinome sans application (b), adénocarcinome après l'application de l'acide acétique (c) et après l'application de la solution d'iode (d)¹.

Cet examen reste assez qualitatif et empirique et son efficacité dépend largement de l'expérience de l'investigateur. Il peut être difficile de distinguer un tissu sain d'un tissu pathologique à partir de la vitesse et de l'intensité du blanchissement, qui peut se produire aussi pour :

- un épithélium qui est en train de guérir et de se régénérer,
- une métaplasie immature pavimenteuse,
- une zone de jonction congénitale et

¹Images issues du site internet <http://www.ifcpc.org>

- une inflammation.

Sur la figure 5.8 nous présentons l'exemple d'une dysplasie sévère avant (a) et après l'application de l'acide acétique (b). Après l'application il y a un certain blanchissement, qui pourtant reste moins intense qu'un blanchissement sain sur un col normal (c) ou qu'un blanchissement d'une zone légèrement dysplasique (d).

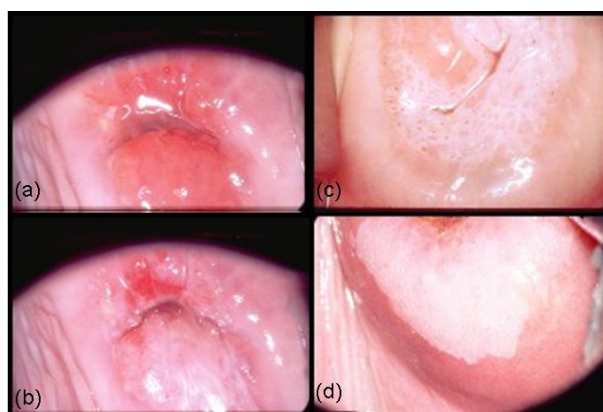


FIG. 5.8 – Dysplasie sévère sans application (a), dysplasie sévère après l'application de l'acide acétique (b), col normal après l'application de l'acide acétique présentant un léger blanchissement (c), dysplasie légère après l'application de l'acide acétique présentant un fort blanchissement (d)¹.

On voit la difficulté de distinguer à l'examen colposcopique les différents degrés de néoplasie cervicale intra-épithéliale avec précision et de manière constante chez les différentes patientes. L'âge de la patiente est un autre paramètre important, puisque, une zone de CIN III chez une femme de 60 ans, par exemple, est beaucoup plus fine qu'une zone de CIN I chez une femme de 25 ans [71].

Les valeurs de la sensibilité de la colposcopie pour la détection de CIN III données par différentes études sont entre 53,6 % [81] et 56 % [82] [83] pour un examen colposcopique en première intention et elle peut atteindre 67,1 % [81] avec une méthode plus conservatrice, qui mène à la colposcopie uniquement après plusieurs examens cytologiques au niveau HSIL. Par d'autres équipes, la sensibilité de la colposcopie au niveau de la distinction d'un col sain par rapport à toute sorte d'anomalie cervicale (atypie, LSIL, HSIL et cancer) était évalué entre 89 % [83] et 96 % [70], avec une spécificité entre 48 % [70] et 52 % [83]. En mettant le seuil au niveau de la distinction d'un col normal ou LSIL par rapport à HSIL ou cancer, la sensibilité diminue à 85 %, tandis que la spécificité s'améliore à 69 % [70]. Une autre étude focalisée sur la visualisation de LSIL ou plus grave après l'application de l'acide acétique donne une sensibilité de 71 % (61-87 %) et une spécificité de 74 % (72-76 %) [84]. Cette sensibilité diminue pour les lésions les plus petites (65 %) et augmente pour des lésions plus grandes (89 %).

Ainsi, la sensibilité de la colposcopie, jointe au frottis est suffisante pour permettre un traitement efficace et de la plupart de cancers sont détectés, mais la spécificité faible montre que les lésions sont sur-estimées, ce qui mène à des biopsies non nécessaires [85]. La difficulté de visualisation des lésions peut conduire à un pourcentage significatif des marges d'excision positives, ce qui oblige à intervenir à nouveau. En plus, rappelons-le, la colposcopie contribue essentiellement à la localisation des lésions mais ne permet pas, en général, de définir précisément le degré de la néoplasie, qui exige de pratiquer des biopsies.

¹Images issues du site internet <http://www.ifcpc.org>.

5.2.4 Biopsie

La biopsie est pratiquée au moyen d'une pince à l'endroit qui paraît le plus anormal, puis elle est fixée et examinée par l'anatomopathologiste, qui doit décider de la présence ou non d'une néoplasie, et si oui, de quel grade.

La différence entre un épithélium normal et un épithélium dysplasique est illustrée sur la figure 5.9. Pour ce dernier l'augmentation du nombre et de la taille des noyaux au niveau de la membrane basale est apparente.

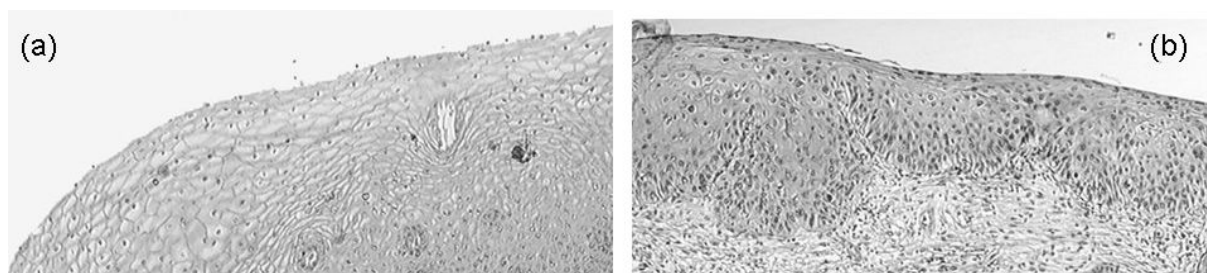


FIG. 5.9 – Epithélium normal (a) et épithélium dysplasique (b). Pour ce dernier on constate clairement l'augmentation du nombre et de la taille des noyaux au niveau de la membrane basale.

La biopsie constitue un outil robuste du diagnostic du cancer du col de l'utérus. Utilisée en combinaison avec l'examen colposcopique, elle en augmente la sensibilité. La sensibilité de la colposcopie guidée par des biopsies moyennée sur l'ensemble du personnel médical-utilisateur varie de 68,3 % avec une seule biopsie, à 81,8 % avec deux biopsies et 83,3 % pour un nombre de biopsies supérieur ou égal à trois. Si l'examen est pratiqué par des gynécologues oncologues expérimentés, cette sensibilité approche 100 % quand la colposcopie est accompagnée d'au moins trois biopsies [86]. Il ne faudrait cependant pas conclure de ces chiffres qu'il n'y a rien à améliorer sur cette technique. D'une part ces performances ne sont atteintes que par les meilleurs spécialistes, après une longue période de formation et de pratique continue ; d'autre part la valeur prédictive positive d'une anomalie colposcopique quelconque par rapport à anomalie histologique quelconque est de 80 % et la valeur prédictive négative pour une impression colposcopique saine est 68 % [83]. Ces deux indicateurs, moins souvent cités que la sensibilité et la spécificité, ont pourtant une importance essentielle pour décider si on pratique ou non l'exérèse chirurgicale.

5.2.5 Exérèse chirurgicale

L'exérèse chirurgicale a lieu suite à une biopsie positive ou même si seulement le frottis est suspect (dans ce dernier cas, les cellules suspectes peuvent provenir d'une région de l'endocol qui n'est pas visible à la colposcopie). Il s'agit d'enlever au laser ou à l'anse diathermique la région anormale détectée en colposcopie et éventuellement biopsiée, avec la zone de jonction incluse (figure 5.10 (a)). Les pièces opératoires enlevées à ce niveau-ci sont appelées aussi *conisations*, en raison de leur forme conique.

Une fois fixées, les conisations sont découpées en tranches parallèles d'épaisseur de 2-2,5 mm. Chaque tranche est découpée encore une fois sur sa longueur, ce qui donne en général de 6 à 25 morceaux, selon la taille de la conisation (figure 5.10 (b)). Ce sont ces morceaux qui sont étudiés au microscope dans un premier temps. Dans le cas d'une observation suspecte sur un de ces morceaux, l'anatomopathologiste en découpe d'autres sur la même tranche, ainsi que sur les tranches adjacentes.

Il y a certains centres d'anatomopathologie qui découpent systématiquement de tranches fines sur toute la largeur de l'échantillon extrait, ce qui produit 250 tranches au total. Le choix

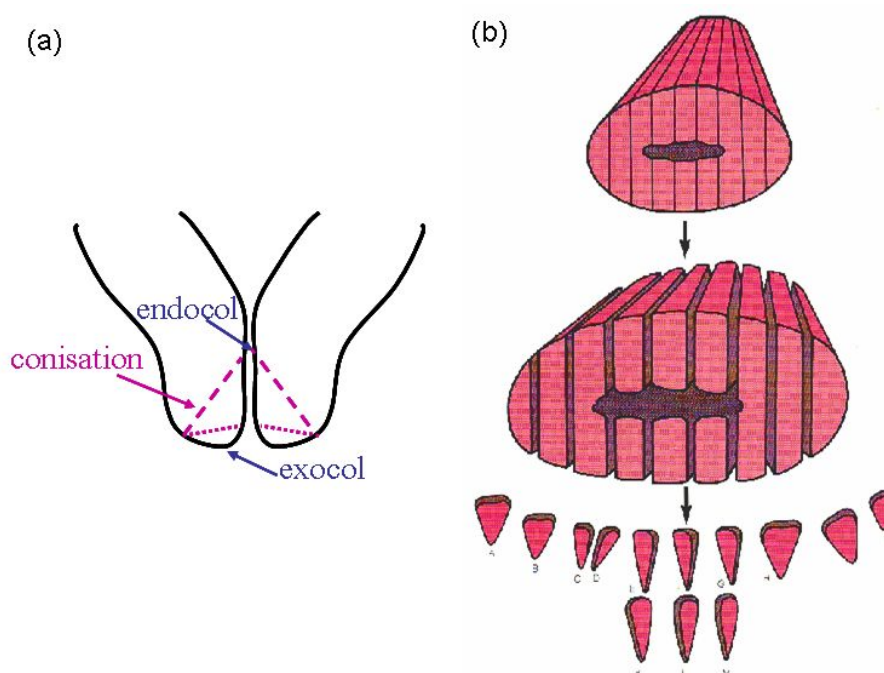


FIG. 5.10 – Exérèse chirurgicale d'une partie du col de l'utérus (a). Les deux traces marquent une conisation plus ou moins profonde selon la gravité du cas. Dans les deux cas la zone de jonction est enlevée. La conisation est découpée en tranches d'épaisseur de 2-2,5 mm d'épaisseur pour l'analyse histologique (b) [71].

d'étudier une seule couche de chaque tranche peut être justifié par le fait que si la zone pathogène est trop petite pour être identifiée en prenant des tranches avec un intervalle de 2-2,5 mm, elle est également trop petite pour modifier la prise en charge de la patiente [71].

Le rapport de l'anatomopathologiste sur une conisation doit contenir les informations suivantes [71] :

1. Le degré de la néoplasie cervicale intra-épithéliale (CIN) si elle est présente, ainsi que sa localisation.
2. Si le cancer est passé au stade invasif ou non. Si oui, il faut donner également la profondeur et largeur maximales mesurées de la tumeur.
3. Si la lésion intra-épithéliale a été retirée entièrement, au niveau de l'exocol et de l'endocol.
4. Si la biopsie n'est pas satisfaisante pour l'analyse, ce qui est évidemment différent d'une biopsie négative.
5. Les autres pathologies éventuellement détectées, comme l'infection par le papillomavirus, la zone de jonction congénitale, la métaplasie pavimentale, l'hyperplasie micrograndulaire ou l'inflammation.

Par la suite, nous donnons une description brève de nouvelles techniques optiques qui sont en train d'entrer dans la pratique médicale du diagnostic du cancer du col de l'utérus.

5.3 Les nouvelles techniques optiques de diagnostic du cancer du col de l'utérus

Le cancer du col utérin est une maladie que l'on peut guérir lorsqu'elle est diagnostiquée au stade précoce. Le dépistage des lésions cervicales, à la fois par la cytologie cervico-utérine et par l'examen colposcopique avec coloration in situ, a fait progresser le diagnostic précoce et donc, le traitement. Néanmoins, du fait de sa faible spécificité, cette approche implique généralement un grand nombre de prélèvements tissulaires et un délai relativement long de prise en charge. Il y a donc un réel besoin de nouvelles techniques de détection peu coûteuses, facilement transportables, et permettant de fournir un diagnostic sans avoir recours à des cliniciens ou pathologistes hautement expérimentés.

Les techniques optiques ont le potentiel de satisfaire ces besoins en offrant une grande variété d'applications cliniques. La biopsie optique, c'est-à-dire l'analyse du tissu par des méthodes photoniques, permet une évaluation du tissu en temps réel (possibilité d'un traitement immédiat), pour de faibles coûts (peu de frais de maintenance une fois le matériel acquis), et n'entraîne aucun risque pour la patiente (pas de prélèvement tissulaire ni de rayonnement dangereux). Les renseignements obtenus proviennent des changements des caractéristiques de la lumière lorsqu'elle interagit avec les tissus. Si la forte diffusion de la lumière dans les tissus introduit des limitations des méthodes optiques pour l'imagerie en profondeur (notamment en termes de résolution spatiale), en revanche ces méthodes peuvent s'avérer très performantes pour le diagnostic de pathologies qui affectent les tissus en surface (jusqu'à quelques centaines de micromètres) comme c'est le cas pour les dysplasies du col utérin.

De fait, diverses techniques de biopsie optique ont été développées et évaluées pour la détection, la localisation et la détermination du stade d'évolution de ces lésions. Même si la plupart de nouvelles techniques sont encore au stade expérimental, leur entrée dans la pratique clinique a débuté et devrait s'accélérer [87]. Ces techniques sont essentiellement *spectroscopiques*, et sont fondées sur la mesure soit de la réflectance, soit de la fluorescence, avec des configurations très variées. Il nous a semblé utile de présenter une (brève) revue de ces techniques avant de décrire les résultats que nous avons obtenus en polarimétrie.

Mais tout d'abord, nous allons introduire les critères généraux d'évaluation d'une nouvelle technologie en médecine.

5.3.1 Critères d'évaluation d'une nouvelle technologie

Dans la littérature cinq niveaux d'évaluation de technologies émergentes sont proposés [85] :

1. **La plausibilité biologique** : Si la compréhension actuelle de la biologie et de la pathologie de la maladie assure le soutien de la technologie en question.
2. **La faisabilité technique** : Evaluer à quel niveau de sécurité et de fiabilité les médecins peuvent mettre en œuvre cette technologie aux patients concernés.
3. **Les indicateurs de performance** : La sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives positive et négative pour une population pertinente.
4. **L'évolution de l'état de santé du patient** : Si la technologie améliore la santé du patient.
5. **Le résultat pour la société** : Le coût et les implications éthiques de la technologie.

Pour les technologies de diagnostic déjà établies, autres cinq niveaux d'évaluation ont été proposés [88], qui, dans l'ordre hiérarchique, sont les suivants :

1. **La possibilité technique** : Si l'appareil fonctionne de manière fiable et délivre des informations précises.

2. **La précision diagnostique** : Si l'utilisation de l'appareil permet des diagnostics précis.
3. **L'impact diagnostic** : Si l'utilisation de l'appareil remplace d'autres procédures diagnostiques, y compris l'exploration chirurgicale et la biopsie.
4. **L'impact thérapeutique** : Si les résultats obtenus par l'appareil influencent le planning et la délivrance de la thérapie.
5. **L'évolution de l'état de santé du patient** : Si l'utilisation de l'appareil apporte une amélioration à la santé du patient.

Si on considère que le rôle d'une technologie diagnostique est de délivrer un diagnostic précis des maladies des individus, l'évaluation du profit se focalise au deuxième niveau. Si la technologie diagnostique est censée influencer la thérapie, ou éventuellement l'amélioration de la santé du patient, les niveaux quatre et cinq devraient être examinés. Des études au niveau quatre et cinq peuvent être plus difficiles à réaliser, parce que cela exige des suivis à long terme.

5.3.2 Biopsie optique par mesure de fluorescence

L'analyse non invasive des tissus par mesure de fluorescence représente certainement la technique de biopsie optique la plus explorée en cancérologie pour l'aide au diagnostic précoce. La fluorescence consiste en l'excitation lumineuse d'un tissu à une longueur d'onde donnée qui déclenche le rayonnement (*fluorescence*) d'une ou plusieurs molécules fluorophores qui émettent à des longueurs d'onde supérieures de la longueur d'onde d'excitation. Connaissant le spectre spécifique du fluorophore recherché, il est possible de l'identifier par discrimination spectrale et d'analyser ses variations d'intensité liées aux changements métaboliques du tissu. La fluorescence peut être naturelle, si elle provient des molécules qui existent déjà dans les tissus (*auto-fluorescence*) ou provenir de fluorophores exogènes (*fluorescence induite*). Le principe dans le diagnostic du cancer consiste à détecter une variation dans l'intensité, la durée d'émission ou la distribution de fluorescence entre un tissu sain et un tissu tumoral. Cette fluorescence peut être mesurée par les techniques de spectroscopie ou d'imagerie, décrites par la suite.

Spectroscopie de fluorescence

Mesure d'autofluorescence La plupart de tissus recèlent des fluorophores endogènes, identifiables par une émission dans une région spectrale spécifique, et dont la distribution dépend de la concentration, du métabolisme et de la structure du tissu. Le coenzyme nicotineamide adénine dinucléotide (NADH), l'élastine et le collagène, sont parmi les fluorophores endogènes les plus étudiés à ce jour pour le diagnostic optique des lésions précancéreuses de divers organes [85][87]. Au niveau du tissu cervical, il a été démontré que la contribution du NADH de l'épithélium à l'autofluorescence totale augmente lorsque le tissu progresse d'un état normal à un stade néoplasique, alors que la contribution du collagène du stroma sous-jacent diminue [89].

Plusieurs études ont démontré que la fluorescence endogène aux alentours de 500 nm des tissus excités dans l'ultra-violet est plus faible pour les tissus tumoraux par rapport aux tissus normaux [85]. Pourtant, à cette longueur d'onde, il n'est pas possible de distinguer les spectres d'un épithélium cylindrique normal de ceux de SILs. D'ailleurs, dans la mesure où l'intensité de fluorescence varie de manière significative d'une patiente à l'autre, une mesure supplémentaire sur un site normal est indispensable. C'est pour cette raison que plusieurs équipes ont focalisé leurs recherches sur les mesures de fluorescence à multiples longueurs d'onde, afin d'en déduire plus d'informations pour pouvoir distinguer de manière fiable les tissus sains des tissus pathologiques.

Fluorescence multi-spectrale Un spectre d'émission de fluorescence est produit quand la longueur d'onde d'excitation est fixée et seule la longueur d'onde d'émission est balayée. Un spectre d'excitation est produit quand la longueur d'onde d'émission est fixée et seule la longueur d'onde d'excitation est balayée. Une matrice d'excitation et émission (EEM acronyme pour le terme anglais "*excitation emission matrix*") contient des intensités de fluorescence en fonction de la longueur d'onde d'excitation et émission et elle est déterminée à partir d'une série de spectres d'excitation et émission. La matrice EEM de fluorescence fournit une caractérisation complète des propriétés de fluorescence de l'échantillon.

Au début des années 1990, quand des mesures de fluorescence in-vivo sur le col de l'utérus sont apparues pour la première fois, l'instrumentation optique n'était pas capable de mesurer des matrices EEM de fluorescence en temps réel [85]. La recherche a donc été focalisée sur la détermination des longueurs d'onde fournissant les spectres d'émission les plus utiles au diagnostic. Vu que le tissu cervical contient un grand nombre de chromophores avec des spectres d'excitation différents, le choix de la longueur d'onde d'excitation peut avoir une importance essentielle pour la performance diagnostique.

Il a été démontré que la différence entre des spectres d'émission des tissus cervicaux sains et pathologiques ex-vivo devient plus importante pour les longueurs d'onde d'excitation aux alentours de 340, 380 et 460 nm, avec une sensibilité de $91 \% \pm 1,3$ et une spécificité de $75,5 \% \pm 1$ pour la différenciation des SILs d'un tissu pavimenteux normal à 460 nm longueur d'onde d'excitation, une sensibilité de $80 \% \pm 4$ et une spécificité de $76 \% \pm 5$ pour la différenciation des SILs de haut grade des SILs de bas grade à la même longueur d'onde d'excitation, tandis que pour la longueur d'onde d'excitation de 380 nm, la sensibilité diminue à $77 \% \pm 1$ et la spécificité à $72 \% \pm 9$ [90]. Une approche de fluorescence à multiples longueurs d'onde basée sur des spectres complets d'émission a donné une sensibilité similaire (82%) et une spécificité remarquablement améliorée (68%) par rapport à la colposcopie par des experts [85].

Mesure de fluorescence exogène Il est possible de forcer le phénomène de fluorescence par des fluorophores artificiels non cytotoxiques et facilement administrables. Deux de ces agents ont été utilisés en clinique humaine, l'hématoporphyrine (ou photofrine II) et surtout de l'acide 5-amino-lévulinique (5ALA). De nombreuses études ont montré l'intérêt diagnostique du 5ALA en gynécologie, particulièrement au niveau du col de l'utérus. Quelle que soit l'origine de la lésion, les zones dysplasiques ont montré une fluorescence plus intense que les tissus sains environnants : 60 à 90 minutes après application de 5ALA sur le col, la mesure de la fluorescence a permis de détecter des dysplasies avec une sensibilité de 94 % et une spécificité de 75 % [87]. L'utilisation clinique de cette approche diagnostique repose désormais sur les recherches de nouvelles formulations (gels, spray, etc.) et de modes d'administration optimaux (utilisation systémique ou topique), ainsi que sur de nouvelles générations d'ALA (pentyl ou hexyl esters) qui pourraient générer une fluorescence plus intense et obtenue plus rapidement qu'avec le marqueur standard.

Imagerie de fluorescence

L'imagerie de fluorescence vise à fournir un diagnostic à partir d'une image de la structure du tissu. Les mesures de fluorescence peuvent se faire localement (au niveau du contact entre la sonde de mesure et la surface du tissu) ou à distance, et les signaux recueillis peuvent provenir soit de la fluorescence spontanée du tissu, soit de fluorophores exogènes de type organique ou inorganique.

Mesures ponctuelles de la fluorescence L'augmentation de la fluorescence du NADH, qui est un fluorophore naturel de l'utérus, se localise principalement au niveau de l'épithélium et serait liée à une activité métabolique plus élevée du tissu dysplasique, alors que la baisse de fluorescence du collagène, localisée dans le stroma sous-jacent, serait induite par une diminution de la densité des fibres de collagène et par un épaissement de la muqueuse, qui empêche une fraction de la lumière excitatrice d'atteindre le tissu conjonctif. Par conséquent, les zones néoplasiques sont caractérisées par une fluorescence beaucoup moins intense que les zones saines. Ces résultats peuvent néanmoins être sensiblement influencés par de nombreux facteurs, tels que le degré histopathologique des lésions analysées (dysplasie de faible, moyen et haut grade), l'inflammation chronique, le cycle menstruel, l'âge (augmentation de la fluorescence du collagène avec l'âge), l'origine ethnique, le tabagisme, la présence d'acide acétique, de mucus ou, encore, la ménopause [85]. La prise en compte de ces variables dans les algorithmes de différenciation spectrale devrait améliorer les performances diagnostiques des matrices de fluorescence et, par conséquent, faciliter la détection des dysplasies aux stades les plus précoces.

Mesures à distance de la fluorescence Bien que particulièrement performantes pour le diagnostic des néoplasies cervicales, les techniques de spectroscopie (et d'imagerie confocale fibrée) de fluorescence nécessitent toutes un contact entre les sondes de mesure et la surface du tissu pour permettre l'acquisition et donc l'analyse des signaux émis. Cette condition ne permet en général pas d'explorer plus d'un millimètre carré de tissu à la fois, ce qui, dans le cadre d'une recherche de lésions, nécessite la multiplication des mesures sur la zone à analyser. Dès lors, ces mesures en un seul point sont préférentiellement envisagées pour l'analyse de petites régions déjà considérées comme suspectes.

Des techniques d'*imagerie* de fluorescence permettant d'explorer simultanément de larges zones à risque ont été développées ces dernières années. Reposant sur l'utilisation de sondes maintenues à distance de la surface du tissu, elles permettent une mesure de la fluorescence spontanée ou exogène. La difficulté de cette approche est d'éliminer ou de minimiser les distorsions des signaux de fluorescence intrinsèques induites par des phénomènes de réflexion de surface et par des effets géométriques (variations de distance et d'angle de vue entre la sonde et la surface du tissu).

Que ce soit par mesure de fluorescence endogène ou exogène, les capacités diagnostiques de l'imagerie à distance du tissu cervical sont satisfaisantes puisqu'elles révèlent une détection des dysplasies avec des sensibilités toujours supérieures à 85 % et des spécificités supérieures à 50 % [87].

Afin d'abaisser le coût de ces technologies d'imagerie et d'envisager leur application à grande échelle, des instrumentations plus simples sont désormais développées, par exemple en remplaçant les spectromètres imageurs par des caméras CCD couleur, capables à la fois de collecter et de résoudre spectralement la fluorescence émise par le tissu. Ces développements ont permis d'améliorer le diagnostic de lésions cervicales à des niveaux comparables à ceux des approches utilisant des spectromètres [87].

Fluorophores inorganiques L'utilisation pour l'imagerie in vivo de nouveaux marqueurs fluorescents de la famille des quantum dots (*boîtes quantiques*) est aussi une piste intéressante pour le dépistage précoce du cancer du col. Les quantum dots sont des fluorophores inorganiques formés de nanocristaux de semi-conducteurs, dont la principale caractéristique est une longueur d'onde d'émission qui est directement en rapport avec leur taille [91]. Des quantum dots de tailles différentes mais produits à partir du même matériau semi-conducteur émettent donc à des longueurs d'onde différentes lorsqu'ils sont excités par un même rayonnement. Cette propriété révolutionne l'imagerie biomédicale car elle permet, à partir d'une seule longueur d'onde d'excitation, de visualiser simultanément plusieurs quantum dots de couleurs différentes, chacun

correspondant à une cible spécifique. De plus, les quantum dots utilisés *in vivo* résistent beaucoup mieux au photoblanchiment (c'est-à-dire à la perte d'émission de fluorescence sous l'effet d'un rayonnement d'excitation prolongé) que les fluorophores organiques traditionnels (rhodamine, fluorescéine, green fluorescent protein, etc.) et présentent une plus faible phototoxicité dans le temps [91].

Récemment, il a été montré que les quantum dots peuvent être couplées à diverses biomolécules, tels que des ADN simple brin, des vitamines incorporées par des cellules cancéreuses ou encore des anticorps monoclonaux [87]. De telles approches devraient permettre d'obtenir *in vivo* une analyse moléculaire (distribution des marqueurs, localisation préférentielle, sur-expression) qui viendrait utilement compléter l'analyse morphologique fournie par l'imagerie d'autofluorescence ou par les marqueurs exogènes classiques.

À ce jour, l'application topique (sous forme de spray ou de gel) de bioconjugués de type anticorps - quantum dots - se heurte aux difficultés inhérentes à l'expression inconstante des antigènes tumoraux de surface et à leur hétérogénéité. Cependant, les travaux en cours devraient permettre d'utiliser cette technique dans un proche futur pour réaliser des biopsies optiques renseignant à la fois sur la morphologie et la distribution de marqueurs moléculaires des tissus néoplasiques [87].

Le futur du dépistage précoce des cancers du col par mesure de fluorescence repose certainement sur l'utilisation combinée des technologies de spectroscopie et d'imagerie et sur une analyse simultanée de la fluorescence spontanée et de celle observée après administration de marqueurs type 5ALA.

5.3.3 Biopsie optique par mesure de réflectance

La mesure de réflectance ne nécessite aucune addition de molécules exogènes et représente l'une des techniques les plus facilement envisagées dans une application clinique, car totalement non invasive. Lors de leur propagation au sein d'un tissu, les photons ont dans leur grande majorité un trajet sinueux (phénomène de diffusion) et finissent soit par être absorbés par des chromophores (phénomène d'*absorption*), soit par ressortir du tissu (phénomène de *rétrodiffusion*) (figure 5.11). La mesure de la lumière rétrodiffusée, appelée réflectance, donne soit des spectres optiques caractéristiques de l'état physiopathologique du tissu (*spectroscopie de réflectance*), soit une image de la zone sondée (*imagerie de réflectance*) qui permet d'apprécier directement la morphologie du tissu.

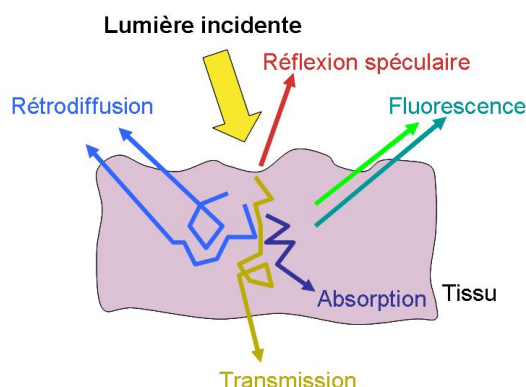


FIG. 5.11 – Interaction de la lumière avec les tissus biologiques.

Spectroscopie de réflectance

Cette technique, appelée aussi *spectroscopie de diffusion élastique*, consiste à utiliser des modèles mathématiques de propagation de la lumière dans les milieux biologiques, pour analyser la réflectance mesurée à la surface d'un tissu et en déduire les spectres de diffusion et d'absorption de la zone sondée. Les variations spectrales (en forme et en intensité) de la diffusion dépendent spécifiquement de la structure du tissu (densité cellulaire, composition de la matrice) et de l'architecture cellulaire (rapport nucléo-cytoplasmique, taille et forme des noyaux) [87]. En revanche, le spectre d'absorption reflète les principaux chromophores présents dans les tissus de surface, tels que l'hémoglobine, la mélanine et l'eau [87]. C'est ainsi que des lésions entraînant des changements structuraux ou métaboliques d'un tissu peuvent être détectées par des variations caractéristiques des spectres de diffusion et d'absorption. Selon différents modèles d'analyses, l'observation de signatures spectrales spécifiques permet aujourd'hui de différencier différents types et grades de lésions survenant dans les tissus superficiels de divers organes.

Au niveau du col utérin, la morphologie nucléaire et le contenu en ADN influencent l'intensité de diffusion de la lumière. Ainsi, l'augmentation de la taille des noyaux et de la densité en chromatine au cours de la progression des lésions dysplasiques a pu être clairement détectée *in vivo* par des variations des spectres de diffusion [87]. L'intensité de réflectance des lésions pré-cancéreuses est plus faible que celle des tissus normaux [92]. Des diagnostics de dysplasie cervicale ont également pu être réalisés à partir de variations des spectres d'absorption et même du signal brut de réflectance [87]. L'enjeu actuel, pour que la spectroscopie de réflectance offre le maximum de sensibilité pour la détection des lésions dysplasiques, est d'analyser de façon combinée différents paramètres optiques (réflectance, absorption, diffusion, fonction de phase), dans des petits volumes de tissus, de l'ordre du millimètre cube. Une utilisation simultanée des techniques de spectroscopie fondées sur la mesure de fluorescence et avec les nouvelles technologies d'imagerie devrait également permettre d'améliorer l'approche.

Imagerie de réflectance

Imagerie confocale Les lésions cervicales pré-cancéreuses sont caractérisées par une augmentation de la taille des noyaux, une augmentation du rapport noyaux/cytoplasme, une hyperchromasie et un pleomorphisme, qui actuellement ne peuvent être évalués qu'après une biopsie invasive [85]. Les nouvelles méthodes d'imagerie de réflectance, utilisant la technologie de la microscopie confocale à balayage laser transmise par fibre optique (*imagerie confocale fibrée de réflectance*), permettent d'obtenir en temps réel et de manière non invasive (aucune utilisation d'agents exogènes n'est nécessaire) une image des structures cellulaires et subcellulaires des tissus, à des profondeurs allant jusqu'à 100 μm à partir de la surface de l'organe [87]. Conceptuellement, l'imagerie confocale *in vivo* est similaire à l'analyse histologique des échantillons de biopsie, sauf que la résolution subcellulaire en trois dimensions est obtenue sans qu'il y ait besoin d'enlever le tissu. Un trou ("pinhole") placé au niveau de l'image conjuguée isole la lumière provenant d'un petit volume autour du point focal, sans nécessité de segmentation physique.

L'ajout de l'acide acétique améliore le contraste. Quelques secondes après son application, l'acide acétique renforce la rétrodiffusion de lumière par les noyaux. Cela fait ressortir l'augmentation du nombre et l'irrégularité des noyaux pour les tissus pathologiques [79] [80].

À ce jour, les sondes disponibles offrent une sensibilité aux faibles signaux de rétrodiffusion et une résolution (jusqu'à 1 μm latéralement et 10 μm axialement) qui sont suffisantes pour permettre la détection d'anomalies cellulaires survenant dans les tissus épithéliaux [87]. Des analyses de tissu cervical *ex vivo* ont ainsi démontré l'intérêt de l'imagerie confocale fibrée de réflectance pour la détection de dysplasies avec une sensibilité pour la détection des dysplasies de haut grade, qui atteint 100 % pour les experts (95 % pour le personnel le moins bien entraîné) et une spécificité qui atteint 91 % (69 % sans entraînement) [93]. Une pratique clinique à

grande échelle de cette approche représente la prochaine étape pour évaluer son impact sur le dépistage des dysplasies cervicales. Par ailleurs, une miniaturisation des sondes suffisante pour leur utilisation par voie endoscopique représente un potentiel certain pour réaliser un diagnostic in vivo des lésions endométriales.

Il reste cependant que cette technique ne permet de visualiser qu'une petite zone à la fois, et paraît donc plus adaptée à une évaluation de l'état de zones déjà repérées comme suspectes qu'à la localisation de ces zones lors de l'examen colposcopique de l'ensemble du col.

Illumination Structurée La microscopie à lumière structurée est une alternative bas coût par rapport à la microscopie confocale qui permet le sectionnement optique au niveau subcellulaire. Concrètement, une grille à une seule fréquence spatiale est projetée sur le plan focal du microscope. Après l'acquisition d'une série d'images du plan modulé spatialement, le sectionnement optique en profondeur peut être obtenu par un traitement mathématique assez simple. L'application de cette technique à l'imagerie de tissus biologiques est toutefois limitée par la relative faiblesse des contrastes obtenus, notamment en mode réflectance [94].

Tomographie par cohérence optique Afin d'imager les tissus cervicaux à une profondeur que la microscopie confocale n'atteint pas, on utilise une autre approche d'imagerie, connue sous la dénomination "*Tomographie par Cohérence Optique*" ou OCT (acronyme du terme anglais "*Optical Coherence Tomography*"). Il s'agit d'une technique interférométrique utilisant une source lumineuse à faible longueur de cohérence, qui est capable de fournir des données de rétrodiffusion pour des profondeurs de plusieurs millimètres, par opposition à l'imagerie confocale, limitée à quelques centaines de microns depuis la surface [85]. Effectivement, au-delà d'une profondeur de 100 à 200 μm à partir de la surface d'un tissu, les photons qui permettent la formation d'images par mesure de réflectance, photons dits balistiques, sont noyés dans le flux de photons ayant subi des diffusions multiples. Les photons balistiques étant par ailleurs les seuls ayant gardé la mémoire de la phase de l'onde optique incidente, ils sont les seuls à pouvoir interférer avec une onde de référence, ce qui fournit un moyen de les extraire du fond de lumière multidiffusée de manière plus efficace que par un critère purement géométrique comme c'est le cas en microscopie confocale. De plus, la résolution en profondeur est liée essentiellement à la largeur spectrale de la source, et peut être de l'ordre du micromètre avec une lumière blanche ou un laser à impulsions ultracourtes. De plus, cette technique est tout à fait compatible avec l'utilisation de fibres optiques, donc en endoscopie [87] [95]. Il a ainsi été possible d'obtenir une sensibilité supérieure à 80 % et une spécificité supérieure à 70 % pour la détection de dysplasies cervicales de haut grade [87].

L'équipe de Petris a intégré un tomographe par cohérence optique sur un colposcope. Leur appareil permet en même temps l'affichage des caractéristiques structurales et l'enregistrement du niveau balayé en OCT sans modifier les procédures médicales habituelles. Le premier essai clinique a démontré l'identification réussie des changements néoplasiques et microstructuraux. L'intérêt de la recherche maintenant est focalisé sur les techniques de traitement d'images qui permettront d'extraire des informations quantitatives concernant le diagnostic du cancer à partir des images OCT. C'est un outil qui permet d'analyser rapidement un grand volume de données. Avec des lasers et des optiques adéquates on arrive à obtenir des images en très haute résolution en OCT, permettant de voir même des cellules [85].

L'OCT présente cependant l'inconvénient d'un contraste limité en rétrodiffusion entre tissus sains et tissus néoplasiques, et surtout, un champ de vue restreint, la complexité de la méthode et le coût élevé de ce type d'instrumentation.

5.3.4 Combinaison des mesures de fluorescence et de réflectance

Imagerie confocale de fluorescence

En utilisant une procédure d'imagerie de fluorescence avec un faisceau de fibres optiques au contact avec la surface du tissu à explorer, la microscopie confocale fibrée permet de visualiser le tissu avec une résolution cellulaire. À partir de mesures d'auto fluorescence du tissu cervical *ex vivo*, Sokolov *et al.* [96] ont ainsi réalisé des images confocales d'épithélia qui, combinées à une analyse par imagerie de réflectance, montrent les différences morphologiques entre tissus dysplasiques et normaux.

L'imagerie confocale fibrée par mesure de fluorescence exogène est envisagée au niveau du col utérin en utilisant des marqueurs non toxiques de type photosensibilisateur (5ALA) ou colorants vitaux (violet de crésyl) pour localiser les zones néoplasiques. L'application de marqueurs nucléaires et/ou membranaires devrait permettre une visualisation à haute résolution de la structure tissulaire et, ainsi, de mieux apprécier les différences morphologiques entre tissus dysplasiques et sains. On peut aussi avoir recours à des fluorophores qui témoignent d'activités métaboliques liées au processus de carcinogenèse ou, encore, à de nouvelles générations de fluorophores inorganiques (*quantum dots*), qui génèrent une fluorescence très stable dans le temps et sont moins toxiques que les fluorophores classiques. Pour l'instant, ces marqueurs n'ont été évalués que chez l'animal ou sur des cultures de tissus humains.

Imagerie de fluorescence à lumière structurée

Le contraste faible de l'imagerie à lumière structurée peut être renforcé avec l'utilisation d'agents de contraste optiquement actifs, comme des nanoparticules d'or et des *quantum dots* utilisés en fluorescence. De cette manière il est possible d'imager les changements morphologiques, ainsi que biochimiques associés aux formes précancéreuses épithéliales [94].

Imagerie par tomographie par cohérence optique et spectroscopie de fluorescence

Afin d'améliorer les performances obtenus en tomographie par cohérence optique, la spectroscopie de fluorescence et l'imagerie par OCT ont été combinées avec succès pour distinguer les lésions néoplasiques du col [97].

Combinaison des mesures de fluorescence et de spectroscopie de réflectance

Cette combinaison permet d'améliorer la performance diagnostique de deux techniques décrites antérieurement, et a sans doute permis les avancées les plus significatives en termes d'utilisation clinique. Différents systèmes à fibre optique ont été développés pour la mesure simultanée des matrices de fluorescence d'excitation-émission et des spectres de réflectance résolus spatialement.

A notre connaissance, des systèmes de ce type ont déjà été commercialisés par trois start-ups :

1. LifeSpex (Norcross, VA), qui collabore avec l'équipe de Rebecca Richards-Kortum [85].
2. SpectRx, qui collabore avec le "Medical College of Georgia" [98].
3. Medispectra, qui collabore avec le "University of Alabama, Division of Gynecologic Oncology" [99] [100].

L'appareil commercialisé par Medispectra utilise une combinaison de trois techniques pour fournir le diagnostic : la *spectroscopie de fluorescence*, la *spectroscopie de réflectance diffuse* et

l'imagerie vidéo [100]. Le spectre de fluorescence est mesuré pour la longueur d'onde d'excitation de 337 nm et aux longueurs d'onde d'émission entre 360 et 720 nm. Les spectres de réflectance diffuse sont mesurés aux mêmes longueurs d'onde, de deux directions différentes pour éviter les problèmes de réflexion spéculaire ou de vignettage du spéculum. Une image vidéo est acquise avant la mesure et elle est utilisée pour focaliser le système optique. L'acquisition se fait en cinq périodes de 3,3 ms : une période de nettoyage du détecteur, une mesure du bruit du fond, une première mesure de réflectance diffuse d'une première lampe dans une direction connue, une deuxième mesure de réflectance diffuse d'une deuxième lampe dans une direction différente, et finalement la mesure de fluorescence. De cette manière, une région de l'utérus de 25 mm de diamètre est balayée. Pendant ce balayage, une image vidéo est acquise toutes les secondes afin de détecter et corriger pour le mouvement potentiel de l'utérus. La mesure se fait 30 à 120 s après l'application de l'acide acétique, soit le temps optimal pour l'augmentation du signal des tissus néoplasiques. La durée du balayage est de 11,9 s en moyenne et une fois terminé, il y a un délai de 15 s avant l'affichage de l'image finale sur l'écran. Au total, le temps écoulé entre l'application de l'acide acétique et l'affichage de l'image final est de l'ordre de 2 minutes. L'image finale consiste en une superposition de l'image vidéo et d'une image en fausses couleurs indiquant les zones suspectes de dysplasie de haut grade.

Le système doit être calibré avant utilisation, au niveau de l'intensité de fluorescence détectée, de l'intensité de la réflectance diffuse, du signal vidéo et de la longueur d'onde. La calibration se fait avec échantillons de référence pour la fluorescence et la réflectance diffuse, ainsi qu'avec des cibles spéciales vidéo en deux étapes : il y a une calibration qui se fait avant chaque consultation avec des références internes à l'appareil et une plus complète avec également des cibles externes qui se fait à long terme.

La sensibilité atteinte est de l'ordre de 90 % [99]. D'après le constructeur, l'utilisation de cet appareil couplé à la colposcopie classique améliore la sensibilité de l'examen de 10-20 % par rapport à la colposcopie seule [101]. Au niveau de la valeur prédictive positive des biopsies pour des patientes avec ASC-US ou LSIL ils ont trouvé 15 % pour leur imageur seul, 15,2 % pour la colposcopie classique et 18,1 % par les deux méthodes jointes.

La prise en compte des diverses sources d'artéfacts et les variations intra- et inter-patientes a conduit à la mise au point d'un appareil performant mais relativement cher, avec plusieurs paramètres à régler et qui nécessite d'une calibration avant chaque mesure, ce qui allonge nettement la durée de la consultation et peut s'avérer rebutant pour de nombreux praticiens.

Les appareils développés par les deux autres équipes utilisent des approches similaires. Les indicateurs de performance publiés par l'équipe de Rebecca Richards-Kortum sont les suivants : une sensibilité de 72 % et une spécificité de 81 % concernant le diagnostic d'un épithélium pavimenteux sain par rapport à une lésion intraépithéliale de haut grade, et sensibilité de 72 % et spécificité de 83 % concernant le diagnostic d'un épithélium cylindrique sain par rapport à une lésion intraépithéliale de haut grade [102].

Quant à l'imageur de SpectRx, la sensibilité atteinte pour la détection de CIN II ou plus, sur la totalité de la surface du col, est de 95 % avec une spécificité de 83 % [98]. Ces paramètres diminuent à 88 % pour la sensibilité et à 86 % pour la spécificité quand le seuil baisse à la détection de CIN I. Ces indicateurs s'améliorent au niveau de la détection de CIN II quand on regarde un quadrant donné du col (sensibilité 100 % et spécificité 95 %), tandis que pour la détection de CIN I ils restent pratiquement aux mêmes niveaux (sensibilité 87 % et spécificité 88 %).

Spectroscopie trimodale

Cette technique consiste à ajouter la mesure des spectres de diffusion simple des noyaux épithéliaux aux mesures des spectres de fluorescence et de réflectance des tissus. Elle présente l'avantage de fournir trois types d'informations médicales pertinentes pour le diagnostic :

1. La *spectroscopie de fluorescence intrinsèque* fournit des informations sur la composition chimique du tissu et donc sur l'état métabolique de l'épithélium et du collagène sous-jacent.
2. La *spectroscopie de réflectance diffuse* fournit des informations sur les propriétés de diffusion et absorption du stroma.
3. La *spectroscopie de diffusion simple* fournit des informations sur l'augmentation de la taille des noyaux au niveau de l'épithélium.

L'équipe de Georgakoudi *et al.* [103] a développé un tel appareil qui acquiert une série de spectres de fluorescence à 10 longueurs d'onde d'excitation différentes et un spectre de réflectance diffuse en une fraction de seconde. Les résultats sont en accord avec l'histopathologie. La prochaine étape consiste à développer un algorithme de traitement des données en temps réel.

5.3.5 Comparaison des différentes techniques, conclusions et perspectives

Les avantages et inconvénients de chaque technique optique présenté ci-dessus sont résumés sur le tableau 5.2.

| Technique optique | Avantages | Désavantages |
|-------------------------------------|---|---|
| Fluorescence | contraste élevé | besoin de fluorophores exogènes coût élevé |
| Fluorescence Réflectance | image macroscopique | coût élevé pas temps réel |
| Microscopie Confocale | résolution élevée | champ de vue restreint coût élevé |
| Microscopie à Lumière Structurée | résolution axiale élevée | contraste faible champ de vue restreint |
| Tomographie à Cohérence Optique | profondeur de pénétration résolution axiale élevée | contraste limité en retro-diffusion champ de vue restreint complexité de la méthode coût élevé |

TAB. 5.2 – Comparaison des différentes techniques optiques dans le diagnostic de cancer du col de l'utérus.

Les valeurs des indicateurs de performance des différentes techniques citées dans cette revue ont été regroupées dans le tableau 5.3. Les "barres d'erreur" importantes sur certains de ces indicateurs sont liées au fait que nous avons regroupé toutes les valeurs obtenues avec les différents seuils (diagnostic du CIN II, CIN I, ou toute sorte d'atypie). En particulier, pour la colposcopie classique les deux limites incluent les statistiques pour la colposcopie seule, ou guidée par une ou plusieurs biopsies, après un ou plusieurs frottis anormaux. Le groupe de fluorescence-réflectance regroupe les indicateurs de performance des trois appareils commerciaux. Il faut noter que pour la grande majorité des techniques décrites nous n'avons pas trouvé dans la littérature de statistiques pour les valeurs prédictives positive et négative, qui paraissent relativement négligées par rapport aux autres indicateurs.

| Technique | Sensibilité | Spécificité | Valeur Prédictive Positive | Valeur Prédictive Négative |
|--|-------------|-------------|----------------------------|----------------------------|
| Colposcopie classique | 53,6-100 % | 48 - 74 % | 80 % | 68 % |
| Fluorescence uni-λ | 76-92 % | 63- 81 % | - | - |
| Fluorescence multi-λ | 82-84 % | 65-68 % | - | - |
| Fluorescence exogène | 94 % | 75 % | - | - |
| Fluorescence à distance | >85 % | >50 % | - | - |
| Imagerie confocale | 95-100 % | 69 -91 % | - | - |
| Tomographie par cohérence optique | >80 % | > 70 % | - | - |
| Fluorescence réflectance | 72-100 % | 81-95 % | - | - |

TAB. 5.3 – Paramètres de qualité de différentes méthodes optiques de diagnostic du cancer du col de l'utérus.

Cet état des lieux de différentes méthodes optiques développées pour le diagnostic du cancer du col de l'utérus montre d'une part que le besoin de nouvelles techniques permettant d'améliorer la performance de la colposcopie est bien réel et fait l'objet d'une concurrence forte entre équipes dont le savoir-faire est reconnu, et d'autre part qu'il est difficile de comparer quantitativement les performances de ces différentes techniques.

De plus, le *coût* et la *facilité d'utilisation* sont également deux paramètres essentiels dont il ne faut pas sous-estimer l'importance pour l'impact qu'une nouvelle technique pourra avoir, in fine, en termes de santé publique. En effet, au moins dans les pays industrialisés la pratique actuelle (dépistage par frottis systématique, colposcopie et éventuellement conisation) a permis de diminuer considérablement la mortalité induite par cette pathologie, et la situation devrait encore sensiblement s'améliorer avec les vaccins préventifs récemment mis sur le marché. Si les nouveaux instruments sont trop coûteux, ils ne bénéficieront pas de la large diffusion nécessaire pour qu'ils puissent avoir un réel impact sur l'efficacité globale du dépistage d'une pathologie que l'on aura tendance à considérer comme plutôt bien traitée. Par ailleurs, l'argument du coût est évidemment encore bien plus important pour les pays en développement, où les structures manquent pour la mise en place d'un dépistage systématique par frottis et où la colposcopie est souvent pratiquée en première intention.

Enfin, si un nouvel instrument est trop long ou trop compliqué à utiliser, le résultat sera le même que s'il est trop coûteux. Dans la pratique, un examen colposcopique ne dure que quelques minutes, et de nombreux praticiens renonceraient sans doute à utiliser tout nouvel appareil qui augmenterait exagérément cette durée.

En conclusion, les indicateurs de performance, bien qu'essentiels, ne sont certainement pas les seuls critères à prendre en compte. Le coût et la facilité de mise en œuvre sont également très importants, et de ce point de vue, l'imagerie polarimétrique, dont la performance reste à évaluer, serait très bien placée par rapport aux techniques spectroscopiques décrites dans cette section.

5.4 L'imagerie polarimétrique pour le diagnostic du cancer du col de l'utérus

L'idée d'utiliser l'imagerie polarimétrique dans le domaine biomédical n'est pas nouvelle, comme on va le voir plus en détail ci-dessous. Cependant, les avancées récentes en imagerie de Mueller décrites dans le chapitre 3 ouvrent des perspectives nouvelles dans la mesure où elles permettent d'envisager l'application de cette technique à l'étude de tissus, et de pièces opératoires, dans le but d'optimiser une technique (si possible plus simple que le Mueller complet) d'imagerie polarimétrique pour le diagnostic *in vivo*.

S'agissant d'une nouvelle technologie biomédicale, il semble pertinent d'appliquer les critères d'évaluation définis au paragraphe 5.3.1.

Evaluation du potentiel de l'imagerie polarimétrique

Plausibilité biologique

La propagation de la lumière polarisée dans les tissus est notoirement un problème complexe [104], surtout s'il s'agit de résoudre le problème *inverse* à savoir la détermination de la *structure* du tissu, et éventuellement son degré de cancérisation, à partir d'une signature polarimétrique. De fait, cette approche a été beaucoup moins étudiée que l'utilisation des signatures spectroscopiques qui ont fait l'objet des nombreux développements mentionnés plus haut. Peut-être ceci est-il lié à l'idée que la cancérisation modifiant sensiblement le métabolisme il est plus facile de chercher des signatures exploitables par des techniques sensibles à la composition chimique plutôt qu'à la structure du tissu.

Ceci étant, dans la situation typique d'un épithélium assez fin (quelques centaines de micromètres) recouvrant un tissu conjonctif composé en grande partie de fibres biréfringentes (collagène) il a été montré qu'en exploitant la polarisation de la lumière on peut extraire le signal de simple diffusion, essentiellement par les noyaux, de la couche épithéliale et d'en déduire la signature spectrale des couches superficielles [105]. L'analyse de ce signal a ensuite permis, par résolution du problème inverse au moyen de modèles adaptés, de reconstituer une image de la répartition des noyaux de taille anormale sur l'épithélium œsophagien.

Au niveau du col utérin, l'utilisation de la polarisation a permis d'augmenter la sensibilité de détection des lésions néoplasiques et la distinction de leurs différents grades, par une amélioration du contraste entre zones acidophiles et non acidophiles, cette amélioration étant optimale à 525 nm [106].

En utilisant une caméra vidéo pour analyser de larges champs à distance des tissus de surface, l'imagerie de polarisation permet également d'améliorer sensiblement le contraste des images obtenues, en facilitant par exemple le diagnostic de plusieurs types de lésions cutanées [107]. Toujours en dermatologie, une étude préliminaire en imagerie de Mueller monolongueur d'onde a montré que les mélanomes sont *moins dépolarisants* que les zones saines ou les tumeurs bénignes [1][2].

Revenant au col utérin, on a vu au début du chapitre que le processus de cancérisation se caractérise par une augmentation de la densité et de la taille des noyaux, en partant de la couche basale et en progressant vers la surface. Drezek *et al.* [79] ont étudié au niveau microscopique l'effet de l'acide acétique, connu pour faire blanchir les lésions au niveau macroscopique.

Sur la figure 5.12 nous présentons des images confocales d'une biopsie cervicale saine et d'une biopsie présentant CIN de haut grade avant et après l'application de l'acide acétique.

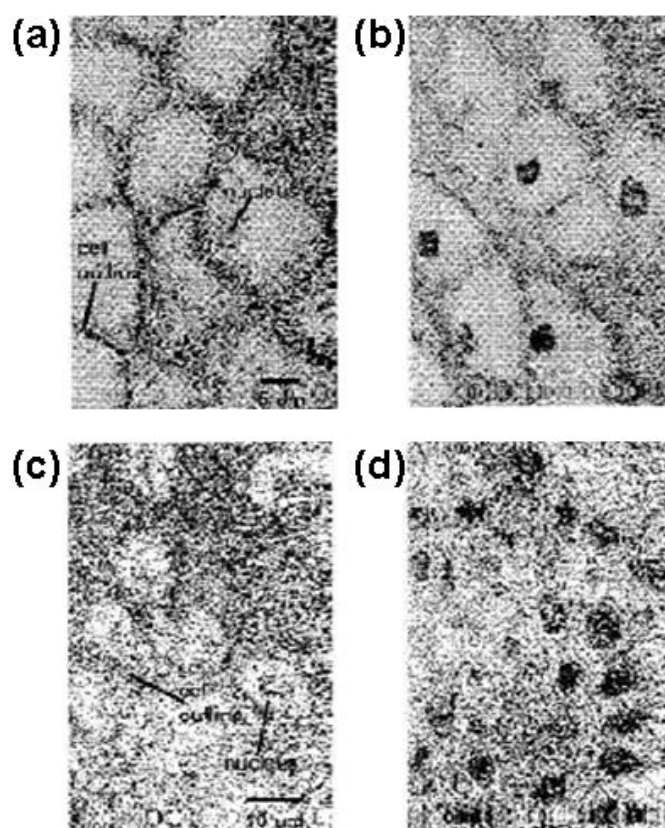


FIG. 5.12 – Images confocales respectivement d'une biopsie cervicale saine (en haut) et d'une biopsie cervicale de CIN de haut grade (en bas) avant (à gauche) et après l'application de l'acide acétique (à droite) à la longueur d'onde de 800 nm [79].

L'image de la biopsie saine avant l'application de l'acide acétique (a) présente les frontières des cellules et des noyaux régulières, ces derniers étant à peine visibles. L'image de la biopsie anormale avant l'application de l'acide acétique (c) présente une réflectivité plus élevée des membranes cellulaires, ainsi que des noyaux. De plus, les cellules sont plus nombreuses et espacées de manière irrégulière. Les images respectives après l'application de l'acide acétique ((b) et (d)) présentent toutes les deux une augmentation spectaculaire de la visibilité des noyaux, probablement en raison d'une augmentation du contraste d'indice entre les noyaux et le cytoplasme. Le libre parcours moyen de la lumière est donc réduit, ce qui explique qu'elle se colore moins avant d'être rétrodiffusée et que le tissu blanchit.

Si nous considérons que la différence entre un tissu sain et un tissu cancéreux consiste en premier lieu en l'augmentation de la taille et de la densité des noyaux, le fait que l'acide acétique ne donne pas des indicateurs de performance idéaux s'explique a priori par le fait que les noyaux ne sont pas forcément les seuls objets dont l'efficacité de rétrodiffusion augmente ; les parois cellulaires, les organelles telles que les mitochondries, voire le stroma sous-jacent peuvent également voir leur efficacité de rétrodiffusion augmenter, ce qui peut provoquer une perte de spécificité par rapport au cas idéal où seuls les noyaux seraient concernés.

Si le blanchissement est essentiellement lié à la diminution du libre parcours moyen de la lumière, la polarimétrie peut apporter des informations supplémentaires sur la taille et la répartition des diffuseurs [104] qui peuvent renforcer le contraste entre l'image d'un tissu sain et d'un tissu cancéreux.

La faisabilité technique et la sécurité

La polarimétrie ne pose évidemment aucun problème de sécurité, dans la mesure où on utilise la même lumière visible que pour l'examen classique, sans rayonnement ionisants, ni haute tension ni drogues quelconque (autres que l'acide acétique et le Lugol, dont l'absence de toxicité n'est plus à démontrer). En revanche, pour la mise en œuvre effective en milieu hospitalier, la fiabilité et l'ergonomie de l'appareil sont essentielles. Il y a également un prérequis incontournable : toute utilisation clinique doit évidemment se faire sans pertes de chances pour les patientes. Au contraire, le protocole doit être conçu de manière que les patientes puissent tirer un bénéfice individuel de leur participation à l'étude.

Les performances attendues

Il s'agit évidemment de l'aspect essentiel, et qui comporte deux volets : le choix de la technique effectivement mise en œuvre et la définition du protocole permettant d'évaluer ses performances.

Comme on l'a vu, l'imagerie polarimétrique peut être mise en œuvre de plusieurs façons et notamment en polarimétrie de Mueller, pour la modalité la plus complète et en degré de polarisation ou DOP pour une des plus simples. De plus, le DOP fournit une seule image, que l'on peut donc évaluer directement par comparaison avec l'anatomopathologie (soit sur une pièce de conisation, soit sur des biopsies dirigées ou non).

En revanche pour le Mueller la question se pose de savoir comment traiter les seize images pour en tirer l'information la plus pertinente. La mise au point de ce traitement des images de Mueller suppose qu'on dispose d'échantillons dont les lésions soient bien cartographiées, ce qui n'est évidemment pas possible in vivo mais peut être obtenu, dans une certaine mesure, sur des conisations pour lesquelles l'anatomopathologiste aura pris le temps d'évaluer toutes les lames et de reporter le résultat point par point sur une "photo" de la conisation, ce qui représente beaucoup plus de travail que la pratique courante pour laquelle on se contente de décrire la lésion la plus avancée et de la localiser approximativement (en précisant bien entendu si les marges sont saines).

Une première évaluation de l'intérêt de l'imagerie en DOP linéaire avait été menée avant le début de ce travail sur un ensemble de 76 conisations au moyen de l'imageur très simple schématisé sur la figure 5.13 et placé à côté du bloc opératoire à la clinique Hartmann (à Neuilly-sur-Seine).

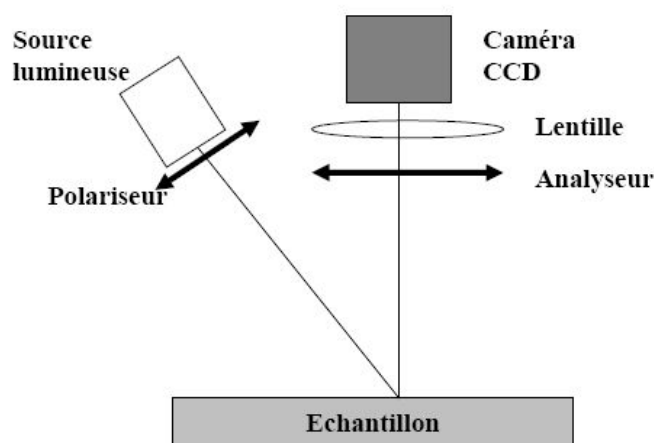


FIG. 5.13 – Imageur en degré de polarisation linéaire [18].

Rappelons que le DOP linéaire est défini par :

$$DOP_L = \frac{I_{||} - I_{\perp}}{I_{||} + I_{\perp}} \quad (5.1)$$

où $I_{||}$ et I_{\perp} sont les images obtenues respectivement pour des polariseur et analyseur parallèles ou croisés. Pour passer d'une configuration à l'autre on tourne le polariseur dans le bras d'entrée, pour éviter le déplacement de l'image lié à la rotation de l'analyseur, qui s'est avéré légèrement prismatique.

Cette étude a montré que l'imagerie de degré de polarisation fournit des contrastes tout à fait différents de ceux observés en polarisations parallèles (ou encore à l'œil nu, en lumière dépolarisée). Les mesures étaient effectuées dans le visible, à trois longueurs d'onde, 450, 550 et 650 nm, avec les meilleurs contrastes obtenus à 550 nm (figure 5.14). La comparaison entre les contrastes observés et la localisation des lésions décrites par les rapports d'anatomopathologie "classiques" (cette étude a été menée en marge de la pratique courante, sans aucune modification de celle-ci, il a donc fallu se contenter des rapports disponibles) s'est avérée trop approximative pour permettre une évaluation quantitative des indicateurs de performance, en partie à cause de l'imprécision de la localisation de l'ensemble des lésions.

Malgré cette limitation, cette comparaison confirme dans l'ensemble les tendances déjà décrites en dermatologie, à savoir que les tissus pathologiques paraissent moins dépolarisants que les tissus sains, et qu'on peut espérer de cette technique une amélioration des indicateurs de performance par rapport à la colposcopie classique.

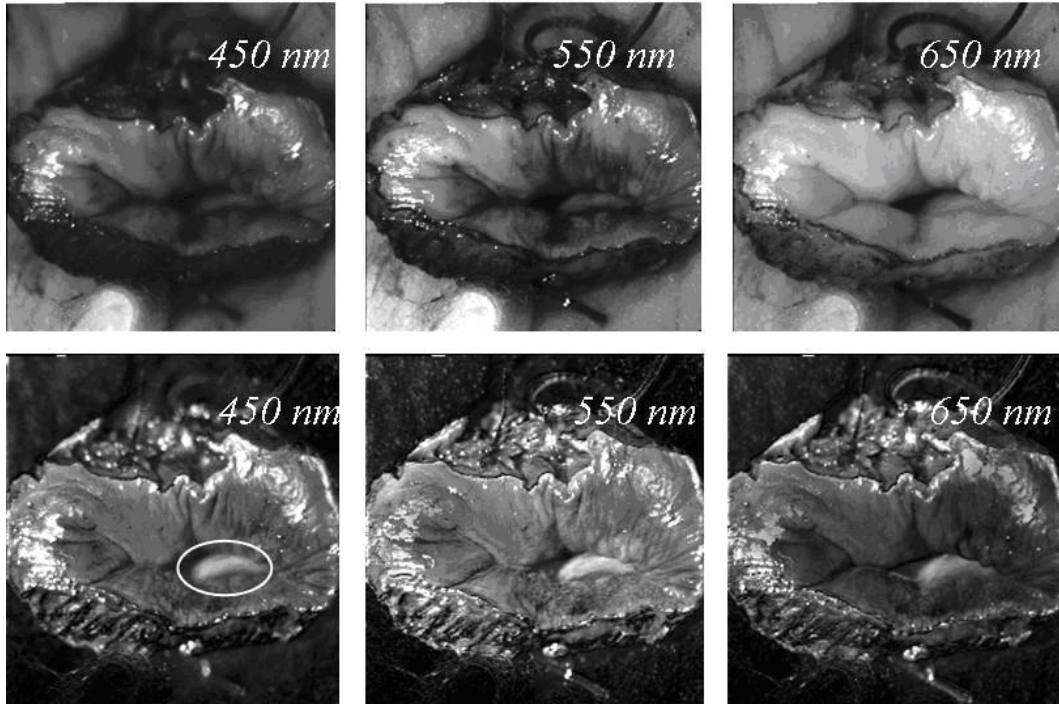


FIG. 5.14 – Ligne du haut : images acquises à 0° azimuth (direction verticale sur la figure) à trois longueurs d'onde. Ligne du bas : images respectives en degré de polarisation. L'ellipse blanche entoure une dysplasie sévère décrite dans le rapport d'anatomopathologie (noter le fil chirurgical en haut de l'échantillon, utilisé comme repère) [18].

Par ailleurs, une nette dépendance du DOP en fonction de l'azimut (orientation commune des polariseurs pour le $I_{||}$) a été constatée : même si sur ces images en DOP les lésions apparaissent très contrastées par rapport aux tissus sains pour des azimuts faibles, pour des azimuts élevés, ce contraste disparaissait complètement (figure 5.15). Compte tenu de la forme de l'échantillon,

ces résultats montrent que le DOP mesuré est maximal lorsque l'orientation commune des polariseurs est dans le plan d'incidence local (plan qui est vertical pour l'exemple étudié).

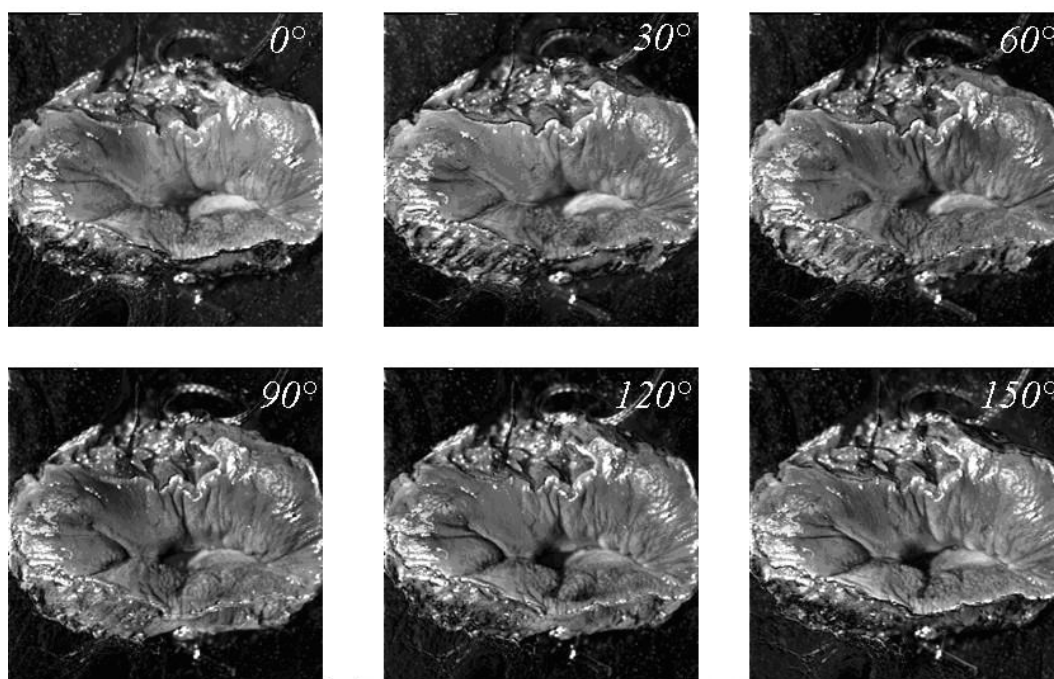


FIG. 5.15 – Images en degré de polarisation du même échantillon que sur la figure 5.14 imagé à différents azimuts avec un pas de 30° [18].

Le bénéfice individuel pour les patientes

Le bénéfice espéré pour les patientes est le même que pour les nouvelles techniques décrites plus haut : il s'agit d'une part de mieux cibler les biopsies pour améliorer le diagnostic et permettre de décider s'il faut ou non pratiquer une conisation dans de meilleures conditions ; d'autre part, lorsque cette décision est prise, de mieux délimiter les marges d'exérèse afin pour intervenir de la manière la plus "économe" possible tout en évitant les marges positives.

Le résultat pour la société

Comme on l'a déjà signalé, le résultat escompté est de même nature que pour les autres techniques : il s'agit d'améliorer le dépistage et la prise en charge des patientes susceptibles de développer un cancer invasif, dont on peut encore réduire sensiblement l'incidence et la mortalité, notamment dans les pays en développement. Comme cela a déjà été mentionné, le coût potentiellement très modique de l'imagerie polarimétrique est un atout majeur pour une technique de dépistage, du moment que ses indicateurs de performance montrent effectivement une amélioration significative par rapport à la colposcopie classique.

Cette étude a été effectuée dans le cadre d'un projet financé par l'ANR, qui comporte deux volets essentiels :

- l'évaluation de la performance de l'imagerie DOP in vivo, dans le cadre d'un essai clinique en vraie grandeur
- en marge de cet essai, l'acquisition ex-vivo d'images de Mueller multilongueur d'onde (de 500 à 700 nm) des pièces opératoires des patientes qui auront bénéficié d'une conisation dans le cadre de l'essai, et l'exploitation de ces images par confrontation avec la cartographie des lésions déterminée par l'examen de toutes les lames.

5.5 Développement du colposcope polarimétrique en DOP

5.5.1 Cahier des charges

L'imageur utilisé pour l'essai clinique doit satisfaire les conditions suivantes :

1. **Adaptation au milieu hospitalier** : Un appareil médical utilisé aux consultations de gynécologie doit avoir une apparence acceptable pour un appareil médical (pas de "bricolage" trop évident) tout en permettant une manipulation aisée de la part du médecin. Il doit être robuste, transportable et résistant au contact accidentel avec des substances potentiellement contaminantes (fragments de tissu, sang etc.).
2. **Temps réel** : Dans la pratique actuelle le gynécologue a l'habitude d'avoir l'image du col via le binoculaire en temps réel et il s'en sert afin de guider les biopsies.
3. **Azimut variable** : La nécessité de régler l'azimut de la polarisation définissant $I_{||}$ pour optimiser les contrastes en DOP a été mise en évidence par les expériences préliminaires.

Quant à la forme de l'appareil, il y avait a priori deux possibilités :

- Soit fabriquer un imageur autonome, tel qu'il puisse gérer en même temps la mesure du degré de polarisation et le côté imagerie, afin d'en optimiser simultanément les caractéristiques,
- Soit construire un système optique pour la mesure du degré de polarisation adaptable à un colposcope commercial.

Le colposcope est un instrument spécialisé, qui doit fournir une excellente qualité d'image pour permettre au praticien d'apprécier le mieux possible tous les détails de l'aspect du col. Nous nous sommes très vite rendus compte que la conception d'un instrument fournissant une qualité d'image acceptable, du point de vue d'optique et aussi mécanique, était bien au-delà de nos possibilités. Par ailleurs, la mesure du degré de polarisation étant relativement simple dans son principe, nous avons fait le deuxième choix. De plus, l'idée d'ajouter un module additionnel à un colposcope existant est certainement le meilleur choix si on veut maintenir le coût de l'ensemble le plus bas possible.

Ceci étant, ce choix nous impose les contraintes liées à la géométrie et aux spécifications du colposcope existant. Les colposcopes commerciaux ont une distance focale typiquement égale à 30 cm (15 cm du binoculaire jusqu'à la patiente, et 15 cm à l'intérieur du vagin jusqu'à l'entrée du col). Par conséquent, l'encombrement dû au système polarimétrique supplémentaire est un paramètre crucial pour la pratique clinique.

Pour des raisons de simplicité inhérentes au déroulement d'un essai clinique, nous avons décidé de travailler à une seule longueur d'onde. Pour cela, nous avons choisi 550 nm, où les meilleurs contrastes ont été observés pendant l'étude préliminaire décrite ci-dessus. Ce résultat doit s'expliquer qualitativement par une profondeur de pénétration de la lumière de l'ordre de l'épaisseur de l'épithélium que l'on veut caractériser (quelques centaines de micromètres), d'ailleurs en accord avec les résultats de Balas [106]. On verra plus loin que les premières images de Mueller de conisations vont dans le même sens.

Configuration retenue Nous avons finalement choisi le colposcope Olympus OCS-500 (figure 5.6), et nous avons adapté devant sa tête optique un système opto-mécanique pour la mesure du DOP à 550 nm avec la possibilité de régler l'azimut, construit par Dominique Clement. Le système, dont le principe est similaire à celui du schéma 5.13 est adapté aux dimensions du colposcope. La différence essentielle consiste en l'intégration d'un cristal liquide ferroélectrique devant l'analyseur, de manière à pouvoir piloter par ordinateur l'équivalent d'un basculement rapide de l'analyseur. Nous décrivons plus en détails le fonctionnement de ce composant essentiel pour notre système dans le paragraphe qui suit.

5.5.2 Cristaux liquides ferroélectriques

Principe de fonctionnement

Les cristaux liquides ferroélectriques (FLC) sont équivalents à des lames retard de retard fixe que l'on peut basculer entre deux orientations différant de 45° l'une de l'autre par changement de signe de la tension appliqué au composant [108]. Le fonctionnement de ces cristaux liquides est donc nettement différent de celui des nématiques, dont l'orientation est fixe et le retard continûment réglable par la tension de commande. Les ferroélectriques commutent en des temps largement inférieurs à la milliseconde, donc beaucoup plus vite que les nématiques. Si leur retard est demi-onde à la longueur d'onde de travail, ils peuvent être utilisés pour faire tourner la polarisation de 90° (figure 5.16). Le plus souvent les FLC sont placés entre polariseurs croisés pour réaliser des obturateurs rapides et sans parties mobiles. Pour notre part, nous les utilisons uniquement comme rotateurs de polarisation.

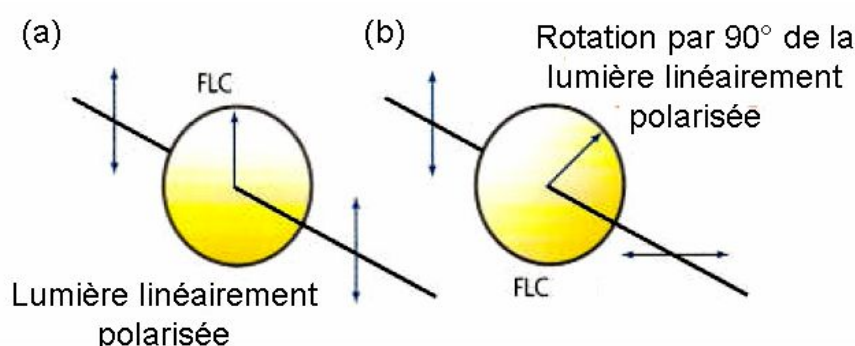


FIG. 5.16 – Principe du fonctionnement d'un cristal liquide ferroélectrique, qui fait tourner l'état de polarisation linéaire incident (a) par 90° (b) ¹.

Choix du cristal liquide

Nous avons utilisé des composants de Displaytech, LV1300-OEM de 13 mm de diamètre d'ouverture et 25,2 mm de diamètre externe. Nous avons testé deux modèles : leur modèle standard nominale à 510 nm et un modèle spécialisé à 600 nm, que nous avons caractérisé au moyen du montage schématisé sur la figure 5.17.

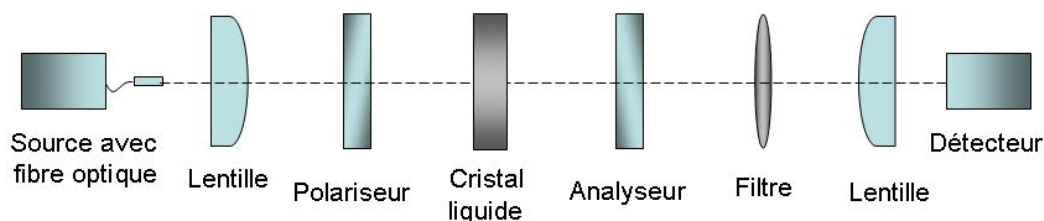


FIG. 5.17 – Montage utilisé pour la vérification du fonctionnement des cristaux liquides.

Le composant est placé entre un polariseur fixe et analyseur que l'on peut faire tourner par pas de 5° . Le cristal est orienté de manière que l'une des deux orientations possibles de son axe optique, que nous appellerons état "on" soit parallèle au polariseur. On suppose que dans l'autre état, l'état "off", le FLC est équivalent à un retardateur linéaire orienté à 45° de la polarisation incidente, et de retard δ (proche de π , bien entendu). Dans ces conditions, quand on fait tourner l'analyseur, l'intensité détectée doit évoluer en fonction de son orientation θ suivant

¹La figure est issue du site internet <http://www.displaytech.com>.

- une simple loi de Malus en $I_{on} = \frac{1}{2} [1 + \cos 2\theta]$ sur l'état "on",
- une loi en $I_{off} = \frac{1}{2} [1 + \cos \delta \cos 2\theta]$ sur l'état "off"

soit deux sinusoides en opposition de phase, avec une décroissance de l'amplitude d'oscillation de I_{off} quand le déphasage δ s'éloigne de la valeur π .

La mesure est réalisée à quatre longueurs d'onde de 500 à 650 nm. Les résultats pour les deux modèles sont représentés sur le graphe 5.18. Le composant standard centré à 510 nm, fonctionne mieux à la longueur d'onde de 500 nm, comme attendu. En revanche le modèle spécifié pour 600 nm présente un meilleur contraste à la longueur d'onde de 550 nm et c'est celui-ci que nous avons finalement retenu pour notre dispositif.

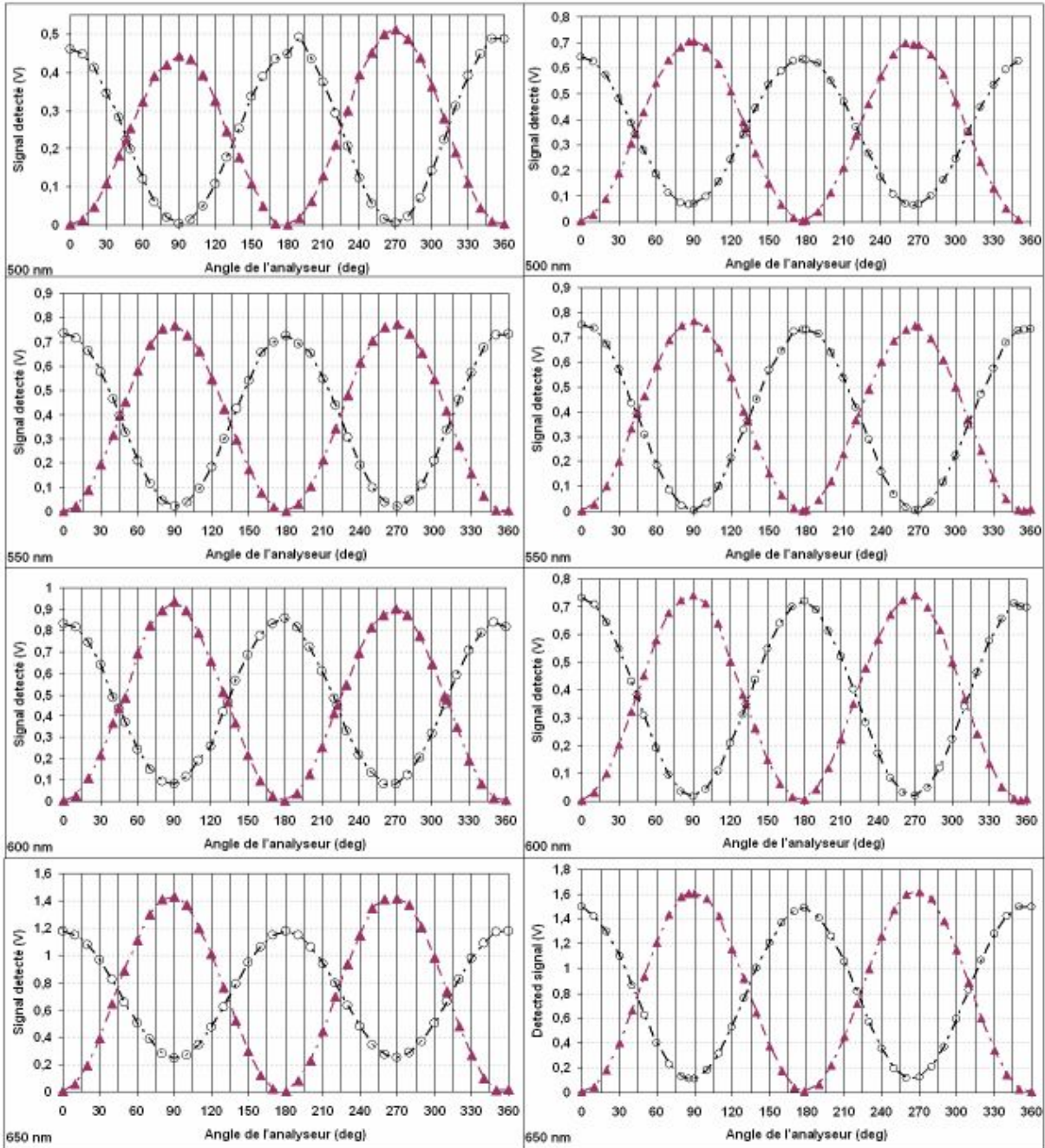


FIG. 5.18 – Caractérisation respectivement des cristaux liquides standard de Displaytech (à gauche) et spécifié pour 600 nm (à droite) à des longueurs d'onde entre 500 et 650 nm. Triangles rouges : état "on", cercles ouverts : état "off".

5.5.3 Le système opto-mécanique

Le système opto-mécanique pour la mesure du DOP consiste en une paire d'engrenages qui accueillent l'un le polariseur et l'autre l'analyseur et le cristal liquide. Les deux engrenages sont pilotés par un pignon commun, de manière à pouvoir changer l'azimut tout en maintenant les polarisations soit parallèles soit perpendiculaires.

L'ensemble du système du dispositif de modulation et d'analyse de la polarisation est monté sur un rail, de manière à pouvoir le placer devant la partie optique du colposcope (le polariseur du côté de l'éclairage et l'analyseur avec le cristal liquide du côté de la détection), ou bien l'escamoter de manière à procéder à un examen colposcopique classique (figure 5.19). L'ensemble du montage est réalisé en Duralumin, avec des vis d'assemblage en laiton.

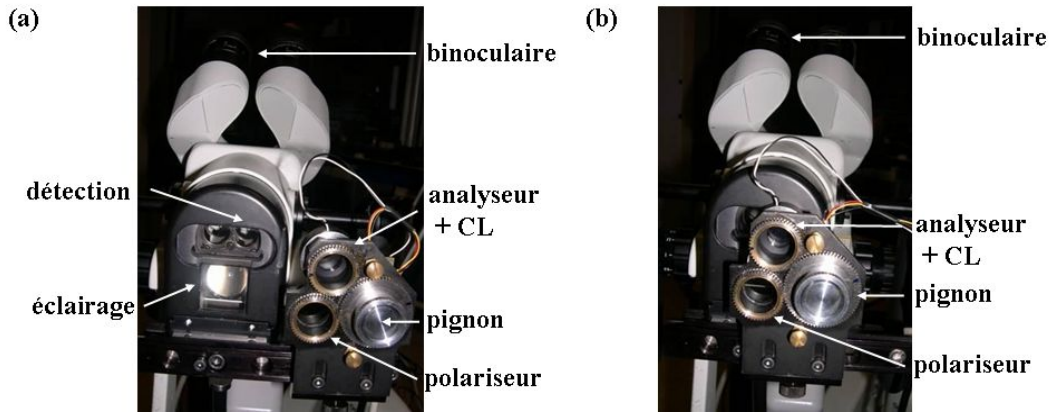


FIG. 5.19 – Système opto-mécanique développé au laboratoire et intégré sur la partie avant d'un colposcope Olympus OCS-500, escamoté, de manière à procéder à un examen colposcopique classique (a) et placé devant la partie optique du colposcope commercial pour un examen en polarimétrie (b).

Etalonnage du potentiomètre pour la mesure de l'azimut Pour intégrer l'azimut directement dans notre logiciel de gestion du système nous avons fait ajuster par Dominique Clement un potentiomètre sur le pignon, de manière à mesurer sa position angulaire par sa résistance, au moyen d'un pont diviseur et d'un convertisseur analogique-numérique muni d'une interface USB et géré en temps réel.

Ne disposant pas de mesure précise de l'angle sur le système lui-même, nous avons effectué cet étalonnage en imageant un polariseur placé devant une plaque métallique et monté sur une rotation précise au quart de degré. Pour chaque position du polariseur nous tournons le pignon pour trouver l'extinction et notons la tension correspondante.

Les résultats sont représentés sur le graphe 5.20, qui montre que les points s'ajustent bien sur une droite d'équation

$$y = 0,216x - 169,108 \quad (5.2)$$

où y est l'angle du polariseur et x la tension sur le potentiomètre.

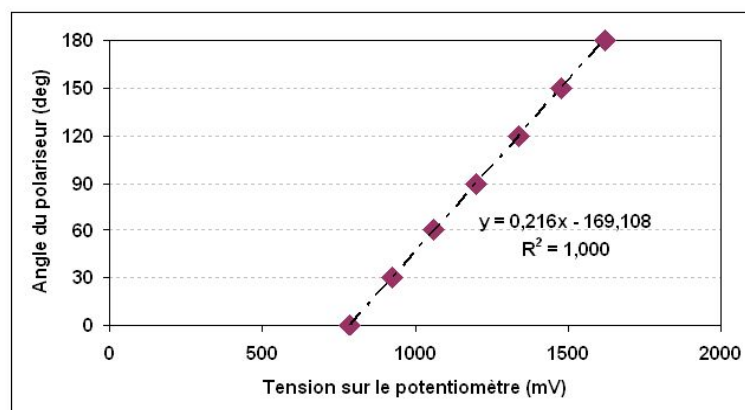


FIG. 5.20 – Etalonnage du potentiomètre

5.5.4 Choix des autres composants optiques

Les deux caméras Nous utilisons deux caméras sur les deux sorties du binoculaire :

1. Une caméra rapide monochrome CCD numérique Dalsa CA-D1 0256T-STD, progressive scan RS422, 12 bits, 256×256 pixels, taille de pixel $16 \mu m \times 16 \mu m$ pour l'acquisition des images brutes pour le calcul du DOP et
2. Une caméra en couleur Olympus OCS5-ETVM accompagnée par un système d'acquisition vidéo OTV-SC(S/N761814) pour l'acquisition de l'image en couleur.

La caméra utilisée pour les images en DOP a été choisie en raison de sa vitesse et aussi de l'expérience de son utilisation et de son interfaçage acquise au cours d'expérimentations précédentes. Finalement dans les conditions expérimentales actuelles elle n'est pas utilisée au maximum de sa vitesse, en raison des limitations imposées par le niveau d'éclairage disponible d'une part et par le logiciel de gestion de l'ensemble de l'instrument d'autre part.

La caméra en couleur est utilisée telle qu'elle a été fournie par Olympus. Elle a un réglage de gain automatique, tout à fait adapté à l'utilisation qui en est faite, et qui consiste uniquement à enregistrer l'image colposcopique classique, soit seule, soit en même temps que l'image DOP fournie par la DALSA.

L'objectif L'ajout de composants dont l'ouverture est limitée (par le système optomécanique) à une distance de l'ordre de 2 cm de l'entrée de l'optique du colposcope a deux conséquences néfastes, la diminution de l'intensité détectée d'une part, et du champ de vue (vignettage) d'autre part. Un autre paramètre à prendre en compte est l'effet de pixellisation de l'image de la DALSA, et qui est lié à la fois au champ imagé et au grandissement.

Compte tenu du fait qu'il fallait prendre l'image "telle quelle" à la sortie du colposcope et que nous ne pouvions pas concevoir de système de reprise d'image compliqué, le seul paramètre à notre disposition était la focale de l'objectif à mettre devant la CCD (l'image de sortie du colposcope étant une image à l'infini). Nous avons d'abord mesuré l'intensité et le champ imagé (dans le plan objet, donc au niveau du col en utilisation clinique) en fonction de la focale avec le zoom (12,5-75 mm) dont nous disposions au départ et un diaphragme d'ouverture égale à celle du FLC. Les courbes obtenues sont reproduites sur la figure 5.21.

A première vue, ces résultats semblent indiquer que plus la focale est courte, mieux ça vaut. Cependant, une réduction excessive de la focale a pour effet de limiter la taille de l'image sur le capteur CCD, avec un effet de pixellisation d'autant plus gênant que la focale est plus courte. Le meilleur compromis a finalement été trouvé pour une focale de 8,5 mm, avec une image couvrant la moitié (en largeur et en hauteur) du capteur, soit 128×128 pixels.

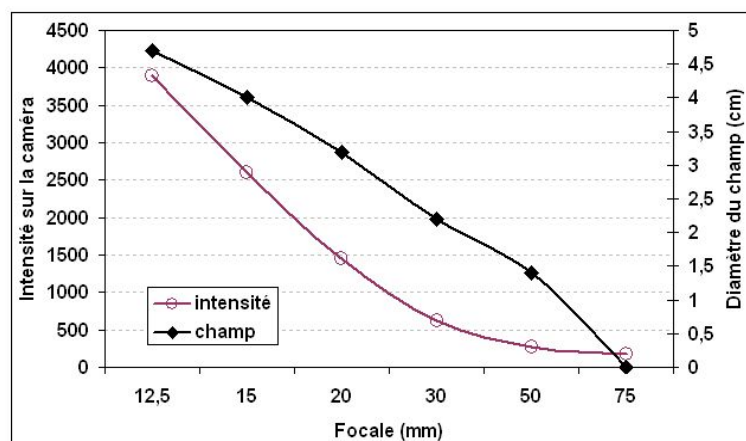


FIG. 5.21 – Signal de la caméra et largeur du champ imagé au niveau de l'échantillon pour différentes valeurs de la focale du zoom placé devant la caméra, avec un diaphragme placé à l'avant du colposcope pour simuler le système de mesure du DOP.

La source lumineuse Compte tenu du niveau typique du signal mesuré avec le système complet sur la peau, le choix de la source lumineuse s'est avéré assez critique. Le colposcope Olympus était fourni sa source standard réglable CLH-SC avec une lampe halogène de 150 W et un faisceau de fibres (c'est d'ailleurs le type de source que nous utilisons avec le polarimètre de Mueller imageur). Une première idée a été d'essayer des LEDS qui émettent directement à la longueur d'onde souhaitée au lieu d'utiliser une source blanche qu'il faut ensuite filtrer.

Nous avons donc essayé plusieurs LEDs de Radiospares. Nous avons sélectionné parmi les différents modèles des LEDs de haute intensité celles dont la longueur d'onde d'émission est dans le spectre entre 500 et 650 nm, mais nous n'avons pas obtenu plus de 30 % du signal mesuré avec la source blanche filtrée. De plus, cette approche n'aurait pas permis d'obtenir simultanément les images DOP et couleur qui se sont avérées nécessaires par la suite. L'idée des LED a donc été abandonnée.

Par la suite, nous nous sommes intéressés à de deux autres sources blanches (lampes halogène de 250 W et xénon de 300 W) compatibles avec le faisceau de fibres d'éclairage, que nous avons comparées avec la source standard de 150 W, avec deux types d'échantillons : du papier et la paume de la main. Les résultats obtenus dans des conditions de mesure réalistes sont résumés sur la figure 5.22.

Avec le papier nous gagnons 15 % de lumière pour la lampe à halogène de 250 W et 60 % pour la lampe à xénon par rapport à la lampe à halogène de 150 W. Les résultats sur la main sont moins flagrants : avec la source à halogène de 250 W nous avons 5 % de lumière en moins et avec la lampe à xénon le maximum que nous pouvons espérer est 25 % plus de lumière. Après avoir estimé le gain qualité / prix nous avons décidé de continuer avec la source standard.

Les polariseur et analyseur Pour choisir le polariseur nous avons essayé trois modèles commerciaux : Meadowlark-Optics, Lot-Oriel et Melles-Griot, dont nous avons remesuré la transmission en positions parallèle et croisée à différentes longueurs d'onde (en vue d'un éventuel fonctionnement multispectral dans le futur). Les caractéristiques de ces polariseurs se sont avérées assez semblables, le polariseur Meadowlark présentant transmission légèrement meilleure mais un contraste un peu plus faible que les autres (ce contraste atteint 250 pour le Melles-Griot à 550 nm).

Par la suite, nous avons réalisé l'importance de minimiser la diaphragmation devant l'entrée du colposcope (voir plus haut) et il s'est avéré essentiel de disposer de polariseurs de diamètre "sur mesure", que nous avons fabriqués nous-même en découpant à l'emporte-pièce de la

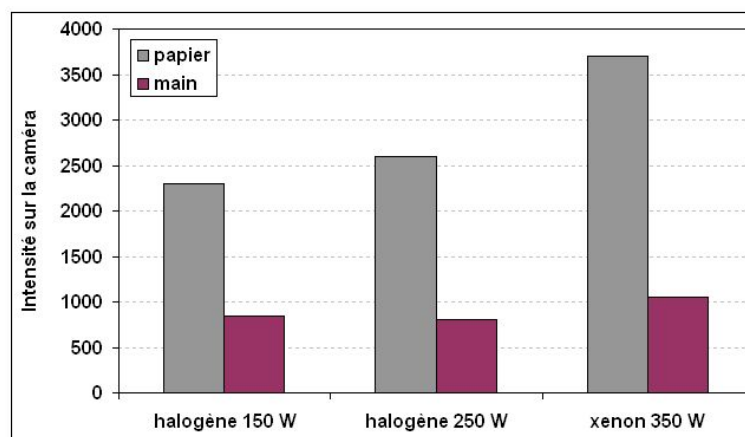


FIG. 5.22 – Intensité de la lumière rétro-diffusée par le papier et la main, respectivement, quand l'éclairage se fait avec la source standard d'Olympus à halogène de 150 W, une source à halogène de 250 W de puissance ou une source à xenon de 300 W de puissance pour la longueur d'onde de 550 nm, 10 ms temps d'intégration de la caméra et un objectif de 8,5 mm de focale.

feuille polarisante (American polarizers). Bien entendu, nous en avons vérifié au préalable les caractéristiques, qui se sont finalement avérées pratiquement identiques à celles du polariseur Melles-Griot, comme le montrent les courbes de transmission et d'extinction de la figure 5.23.

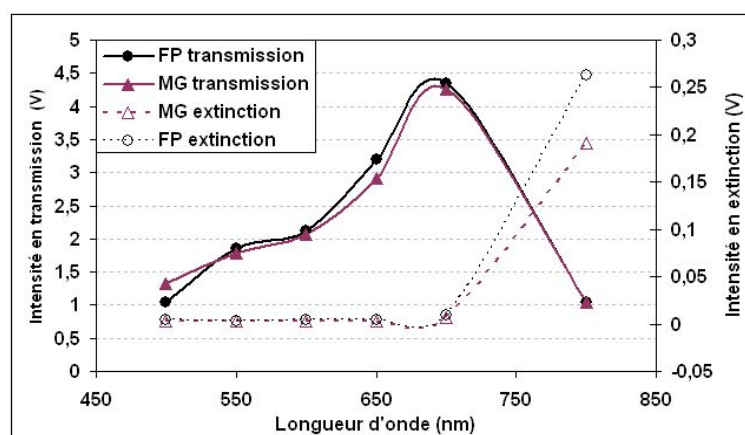


FIG. 5.23 – Comparaison de la transmission et de l'extinction réalisées par un polariseur de Melles Griot (MG), qui s'est avéré le meilleur parmi d'autres polariseurs commerciaux et par la feuille polarisante (FP) utilisée pour la fabrication des polariseur et analyseur montés sur le colposcope polarimétrique.

Un dernier problème est apparu lors du montage des polariseur et analyseur sur le système opto-mécanique : le colposcope lui-même présente un fort dichroïsme linéaire, certainement dû à la séparatrice permettant l'éclairage simultané de la voie d'observation directe et de la sortie caméra. Il a donc finalement fallu remplacer l'analyseur linéaire (côté observation, après le FLC) par un analyseur circulaire, découpé également dans de la feuille polarisante (circulaire cette fois) et prenant soin, bien entendu, de l'attaquer du bon côté (sur le polariseur linéaire et non sur la quart d'onde). Cet analyseur a permis de retrouver un niveau de signal sur la CCD pratiquement indépendant de l'azimut quand on image des échantillons isotropes, tout continuant à mesurer un DOP linéaire.

5.5.5 Evaluation de la précision de la mesure du DOP

Une fois finalisé le montage optique, nous avons testé la précision de la mesure du DOP en utilisant comme objet test la lame retard en mica placée devant une plaque métallique dépolie, qui ne change pratiquement pas la polarisation. Le montage est illustré sur la figure 5.24. Tout se passe alors comme si on mesurait le DOP en transmission d'une lame dont le retard serait le double de celui de la lame en mica.

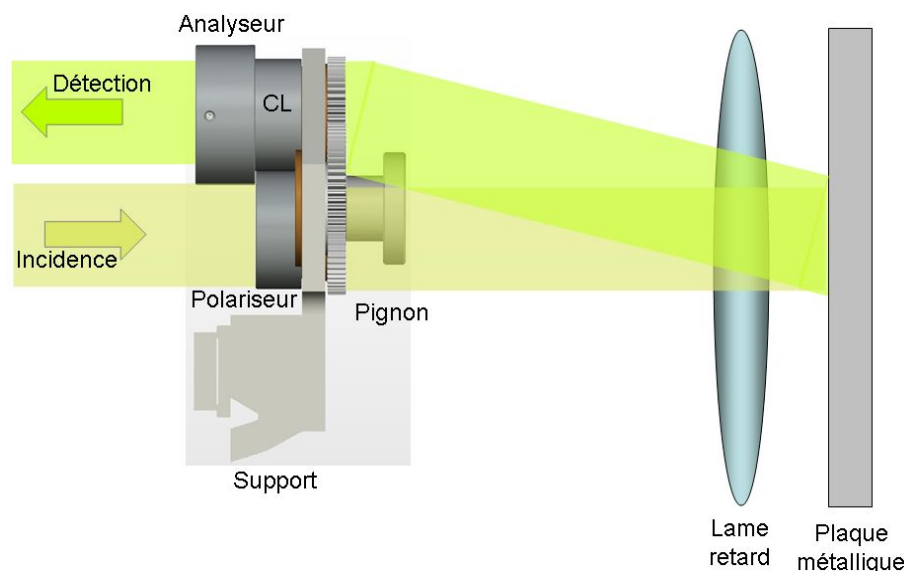


FIG. 5.24 – Montage utilisé pour la vérification de la mesure du DOP. Le système optique est monté sur le colposcope Olympus OCS-500.

Ce retard, mesuré à 500, 550 et 600 nm avec notre polarimètre imageur, est reporté sur la figure 5.25, où chaque valeur est la moyenne de cinq mesures. De cette manière, nous avons pu obtenir la valeur de $86,85^\circ$ pour le déphasage réel de la lame retard à 550 nm. On voit que la lame est très proche d'un quart d'onde à 550 nm, et par conséquent d'une demi-onde en double passage. Dans ce dernier cas, quand on fait tourner la lame, le DOP doit varier entre -1 et 1.

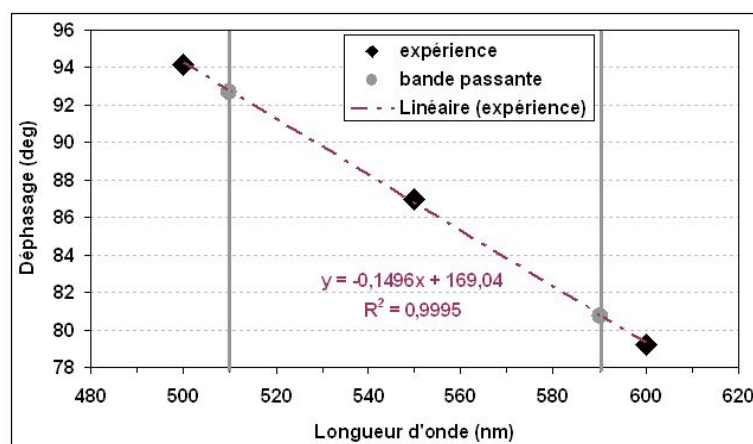


FIG. 5.25 – Déphasage de la lame retard mesuré à 500, 550 et 600 nm au moyen de notre polarimètre de Mueller (points noirs) et leur ajustement par une droite (courbe rouge). Les traits gris correspondent aux bords de la bande passante de 80 nm du filtre utilisé centré à 550 nm.

D'une manière plus quantitative, la transmission T d'un système optique contenant un retardateur linéaire entre un polariseur et un analyseur linéaires s'écrit :

$$T = \frac{1}{2} [\cos^2 \alpha \cos^2 \beta + \sin^2 \alpha \sin^2 \beta + 2 \sin \alpha \cos \alpha \sin \beta \cos \beta \cos \phi] \quad (5.3)$$

où α représente l'angle entre le polariseur et l'axe lent du retardateur, β l'angle entre l'analyseur et l'axe lent du retardateur et ϕ le retard. Il suffit alors de calculer I_{\parallel} et I_{\perp} par cette formule pour en déduire le DOP. Le résultat du calcul pour des valeurs du retard de 90° et de $86,85^\circ$ apparaissent sur la figure 5.26. Nous constatons que l'écart par rapport au déphasage idéal de 90° décale légèrement la courbe théorique de DOP par rapport à l'origine et n'affecte que très légèrement les maxima et minima ($\pm 0,97$ au lieu de ± 1).

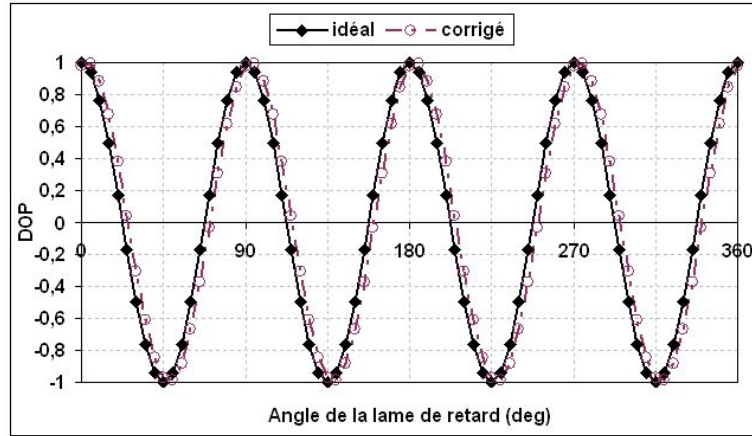


FIG. 5.26 – DOP théorique idéal et corrigé par rapport au déphasage de la lame de retard mesuré expérimentalement.

Les mesures ont été réalisées d'abord avec le filtre de 40 nm de bande passante, utilisé jusqu'ici pour la mise au point de l'appareil, puis avec un filtre de 80 nm de large (toujours centré à 550 nm) afin de gagner en intensité. Les résultats apparaissent sur le graphe 5.27, qui montre que l'amplitude d'oscillation du DOP mesuré diminue de 3,5 % quand on élargit la bande passante de 40 à 80 nm. Considérant que pour les mesures *in vivo* nous n'aurons pas besoin d'une telle précision absolue, alors que le gain en intensité paraît beaucoup plus important, c'est le filtre de bande passante de 80 nm que nous avons finalement retenu pour notre dispositif.

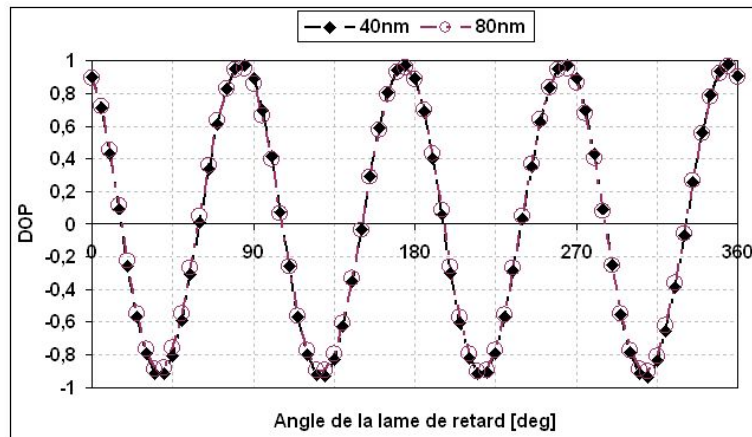


FIG. 5.27 – Mesure du degré de polarisation avec le colposcope polarimétrique pour deux filtres à 550 nm, l'un avec une bande passante de 40 nm et l'autre avec une bande passante de 80 nm.

Ce problème de niveau d'intensité étant *a priori* important (les images *in vivo* pouvant

comporter de grandes différences d'intensité d'un point à un autre, suivant l'inclinaison, la présence ou non de mucus etc.) nous avons voulu vérifier que l'intensité n'influait pas trop la mesure du DOP, que nous avons donc mesuré avec un niveau de signal $I_{||}$ de 3000 (soit les trois quarts du niveau de saturation, puis de 400. Les courbes obtenues sont pratiquement superposées (voir figure 5.28). Cette stabilité n'est toutefois obtenue qu'en prenant soin de retrancher systématiquement du signal mesuré l'offset dû au courant d'obscurité, qui vaut typiquement 50 à 22° C et 150 à 27°.

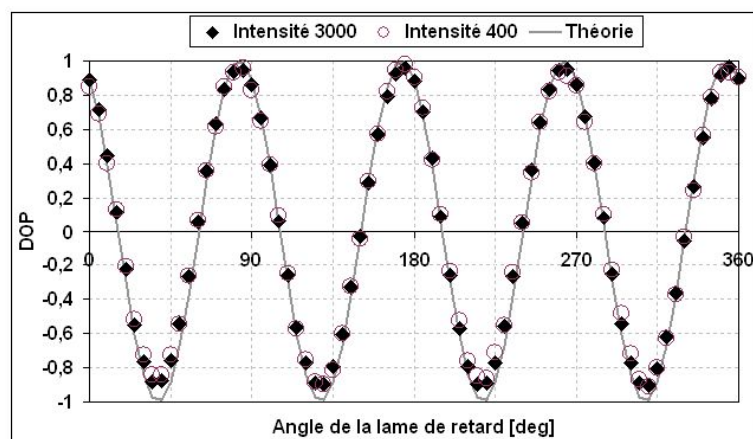


FIG. 5.28 – Mesure du degré de polarisation avec le colposcope polarimétrique avec le filtre de 550 nm, d'une bande passante de 80 nm à un éclairage fort (3000 sur la caméra, en sachant que la valeur de saturation est 4095) et à un éclairage faible (400 sur la caméra). La distance à laquelle nous travaillons est entre 30 et 40 cm de la partie optique du colposcope, distance opératoire typique lors des consultations.

5.5.6 Validation de l'imagerie DOP in-vivo

Dans ce paragraphe nous présentons les premières images obtenues in-vivo avec le colposcope polarimétrique dans le cabinet du gynécologue (le Dr. Bernard Huynh) avec qui nous collaborons, avec l'autorisation des patientes. Sur la figure 5.29 nous présentons le cas d'une patiente qui avait un col normal. Les images ont été acquises d'abord sans préparation (première ligne), après l'application de l'acide acétique 3 % (deuxième ligne) et après l'application du Lugol, une solution d'iode (troisième ligne) à quatre azimuts : 0, 45, 90 et 135°. Toutes les images sont plutôt homogènes, sans particularités. Les quelques points blancs correspondent aux pixels saturés de la caméra en raison des réflexions spéculaires de la lumière que nous ne pouvons pas éviter. Les fausses couleurs à la circonférence de l'image correspondent aux endroits où l'éclairage n'est pas assez élevé afin d'assurer une mesure précise du DOP.

Des images analogues ont été acquises pour une patiente qui présentait déjà une zone blanche suspecte en colposcopie classique (figure 5.30). Cette fois-ci déjà sur les images sans préparation, nous voyons apparaître une zone plus blanche par rapport au corps du col, présentant un DOP plus élevé que le reste des tissus. Ce contraste est encore plus élevé après l'application de l'acide acétique sur la deuxième série d'images. Nous avons entouré la zone suspecte par une ellipse blanche. Les bords de cette zone apparaissent clairs, comme une sorte de texture différente du reste de l'image. Il faut remarquer encore une fois la dépendance du DOP en fonction de l'azimut : le contraste qui apparaît très fort pour 0°, est moins fort à 45° et pratiquement disparaît pour les angles de 90 et 135°, ce qui justifie encore une fois l'addition du pignon au montage optique qui permet la modification de l'azimut. Quant aux images après l'application de la solution d'iode, qui colore en rouge les tissus, elles semblent trop bruitées (niveau de signal trop faible) pour être exploitables.

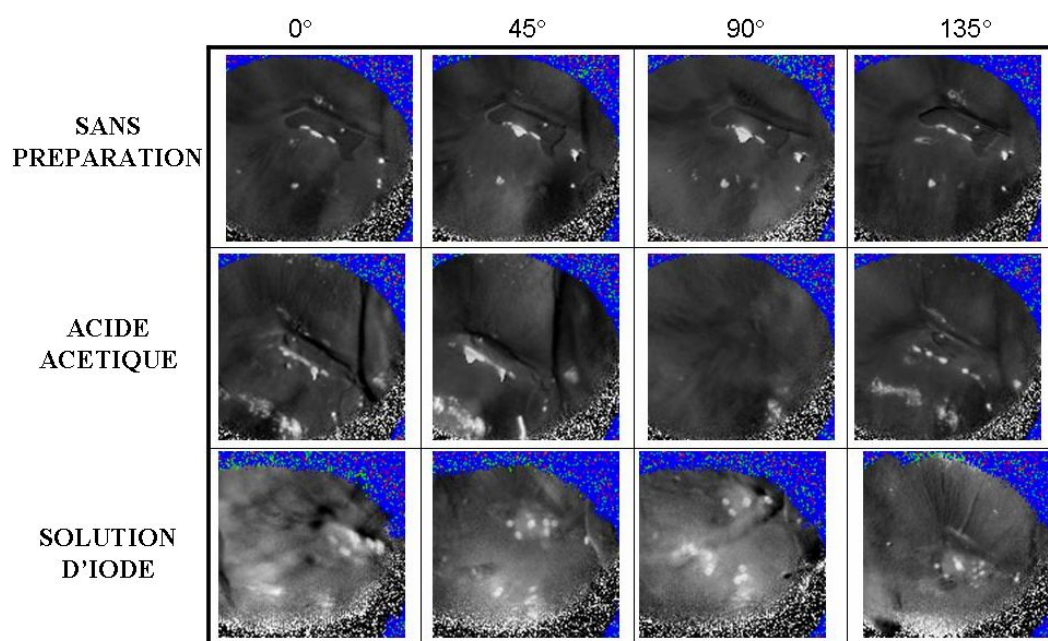


FIG. 5.29 – Images en degré de polarisation in-vivo d'un col normal à différents azimuts : 0, 45, 90 et 135°. La première ligne correspond aux images sans préparation, la deuxième ligne aux images après application de l'acide acétique 3 % et la troisième ligne aux images après application de la solution d'iode.

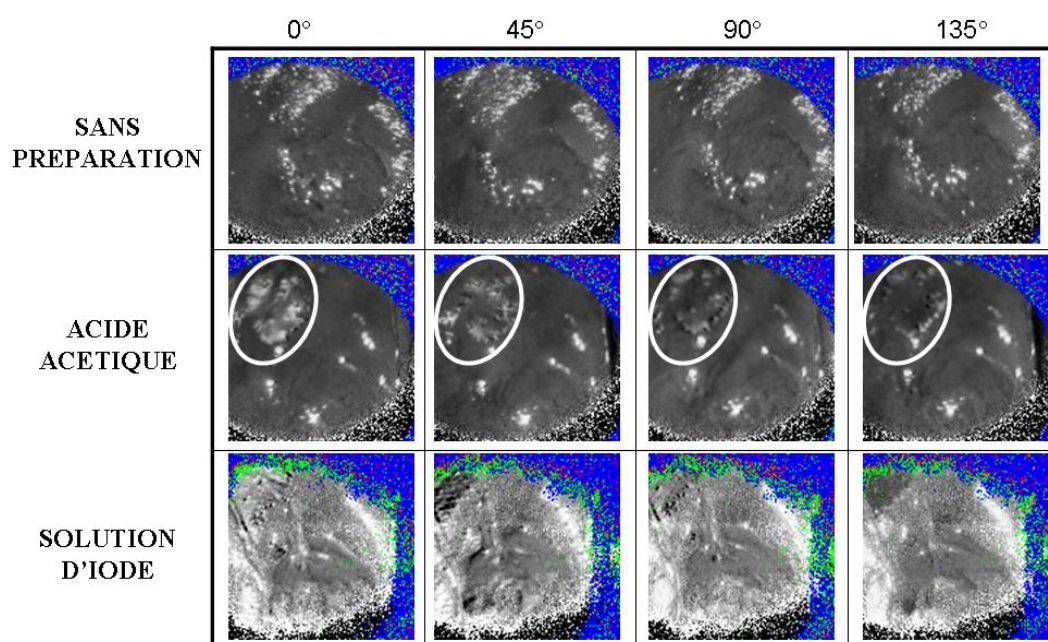


FIG. 5.30 – Images en degré de polarisation in-vivo à différents azimuts (0, 45, 90 et 135°) du col d'une patiente ayant une zone blanche suspecte déjà détectée en colposcopie classique. La première ligne correspond aux images sans préparation, la deuxième ligne aux images après application de l'acide acétique 3 % et la troisième ligne aux images après application de la solution d'iode. L'ellipse blanche sur les images après application de l'acide acétique delimite la zone a priori anormale.

Regardons plus en détail ces données. Sur les figures 5.31 et 5.32 les images brutes acquises entre polariseur et analyseur parallèles (en haut) et croisés (en bas), sont présentées pour le col normal (images en DOP sur la figure 5.29) et pour le col pathologique (images en DOP sur la figure 5.30), respectivement, aux quatre azimuts (0° , 45° , 90° et 135°). Dans les deux cas, la lésion apparaît comme une augmentation locale de l'intensité sur les images entre polariseur et analyseur parallèles. Au moins dans ce cas, l'augmentation du DOP est donc due à une augmentation de l'intensité rétrodiffusée sur la polarisation incidente et non à une diminution du transfert d'intensité de la polarisation incidente à la polarisation perpendiculaire.

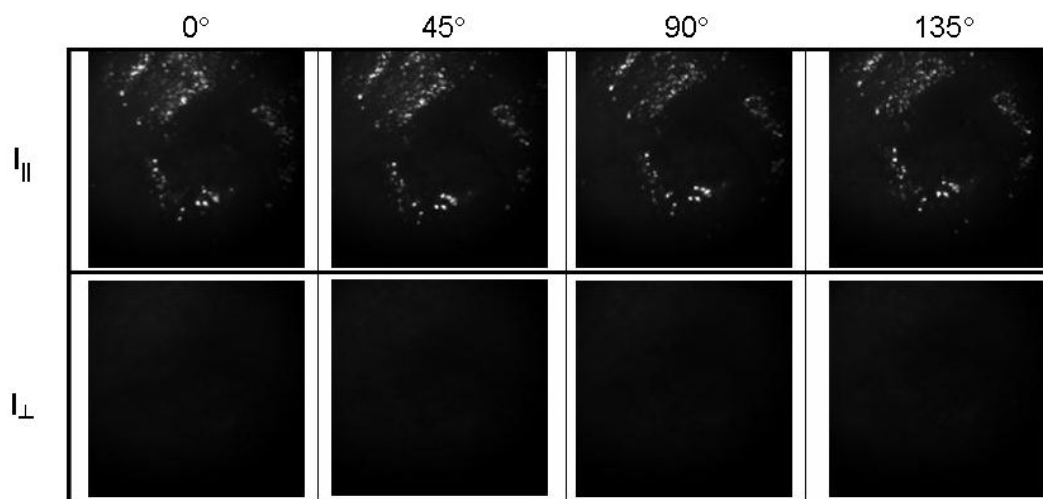


FIG. 5.31 – Les images entre polariseur et analyseur parallèles (en haut) et croisés (en bas) sans application pour la patiente présentant une zone blanche suspecte.

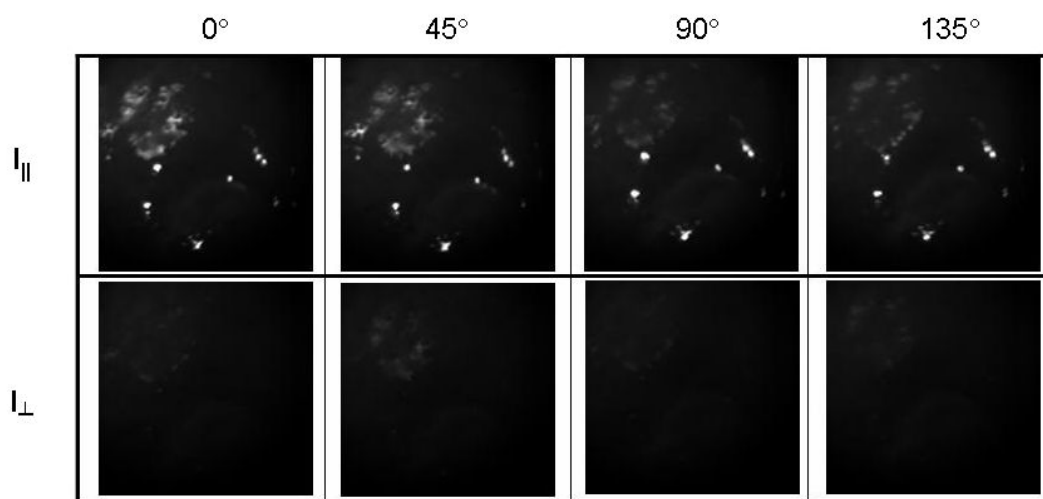


FIG. 5.32 – Les images entre polariseur et analyseur parallèles (en haut) et croisés (en bas) après application de l'acide acétique pour la patiente présentant une zone blanche suspecte.

5.5.7 Interface utilisateur du colposcope polarimétrique

En même temps, nous avons développé tout le programme de gestion de l'instrument sous Delphi, en apportant un soin particulier à la fiabilité et à l'ergonomie, en vue de l'utilisation in fine de l'appareil par des médecins. Le programme doit gérer simultanément, en temps réel :

- La commutation de cristaux liquides, l'acquisition des images de la DALSA, et le calcul du DOP et l'affichage du résultat,
- L'affichage de la caméra couleur,
- L'acquisition et l'affichage de la mesure de l'angle.

Ce programme "multithread" a été développé avec l'aide de Frédéric Liège.

La version finale de l'interface apparaît sur la figure 5.33. Avec cet outil, le colposcopiste a la possibilité d'afficher les deux images sur l'écran, l'image en couleur qu'il a l'habitude de regarder en colposcopie classique et l'image en DOP (en noir et blanc) soit simultanément, soit une à la fois. Ensuite, il peut dessiner à l'aide de la souris ou du trackball les zones dysplasiques, avec des couleurs différents selon la gravité du cas (Transformation Atypique de Grade I ou II, TAG1 / TAG2). Il peut également marquer sur ces images les points où il effectue ses biopsies. Ses points sont automatiquement numérotés, avec des chiffres pour l'image en colposcopie classique et avec des lettres pour l'image en DOP.

L'interface offre également d'autres fonctionnalités, comme :

- L'affichage du niveau d'intensité détectée sur la caméra polarimétrique suivant une ligne, de manière à pouvoir contrôler le niveau d'éclairage de l'échantillon, ainsi que la saturation de la caméra,
- L'affichage, sous forme graphique et numérique de l'azimut,
- La possibilité de modifier le contraste sur l'image en DOP, afin de mieux faire ressortir les zones dysplasiques par rapport aux zones saines,
- Une gestion optimisée de la sauvegarde des données.

Après la suggestion du gynécologue avec qui nous collaborons, nous avons associé les boutons de l'interface aux boutons d'un joystick (Logitech extreme 3D pro). C'était une solution ergonomique, simple et rapide pour faciliter la tâche du colposcopiste¹ sans augmenter considérablement le temps actuel de la consultation. De cette manière, il n'a pratiquement pas besoin du clavier pendant la consultation, et presque toutes les opérations (du moins les plus fréquemment utilisées) peuvent se faire en un clic du joystick.

Quant à la sauvegarde des images, une arborescence de répertoires correspondant aux noms des patientes est créée avant le début de chaque séance. Le praticien peut ensuite naviguer dans cette arborescence pour sauvegarder les données relatives à chaque patiente dans le bon répertoire sans perte de temps. La sauvegarde des images (soit classiques, soit polarimétriques, soit les deux), avec les paramètres pertinents acquis automatiquement (orientation du polariseur, agent de contraste utilisé (aucun, acide acétique, Lugol), réglages divers de l'instrument) est déclenchée par un clic de souris ou de joystick. Les images sont sauvegardées sous deux formats : avec et sans marquage des sites de biopsies et des contours des zones TAG1 et TAG2, pour pouvoir garder en même temps les images originelles et le diagnostic de la consultation.

La vue de l'ensemble de l'appareil apparaît sur la figure 5.34.

¹Il faut noter que pendant la consultation le colposcopiste a souvent au moins une de ses mains occupée afin de tenir le speculum ou appliquer les colorants.

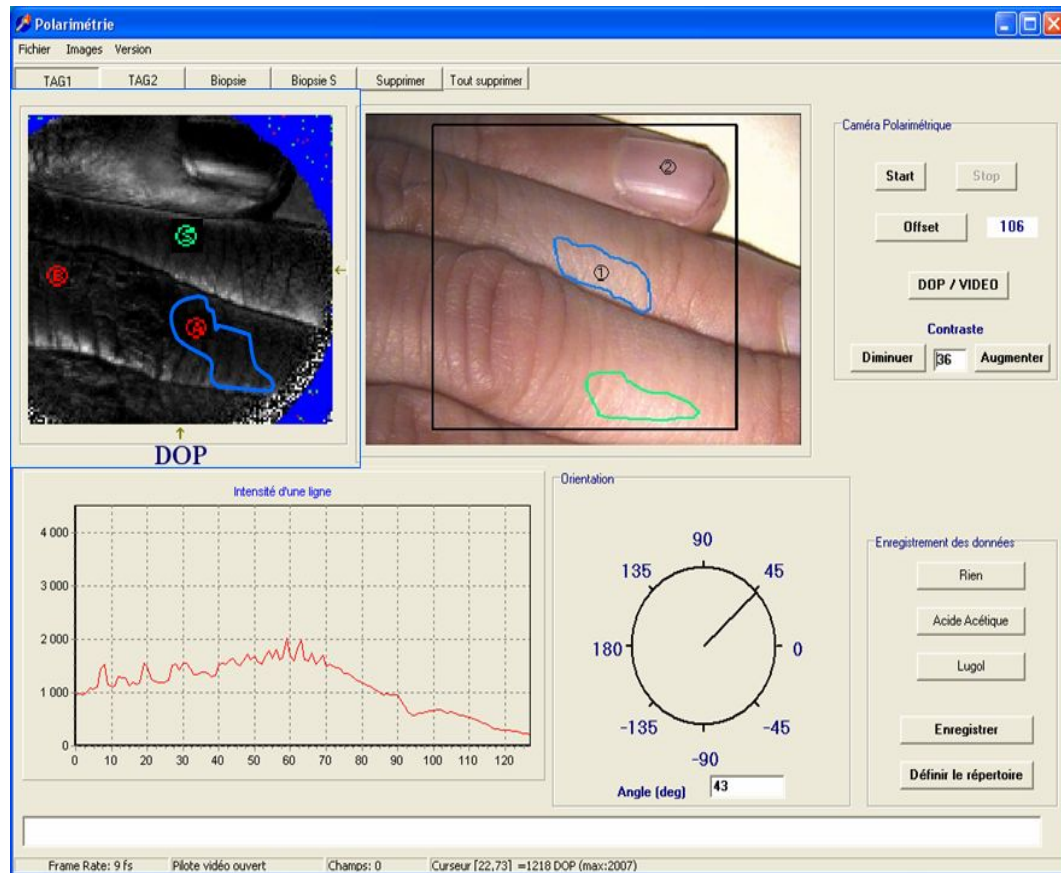


FIG. 5.33 – Interface utilisateur du colposcope polarimétrique.

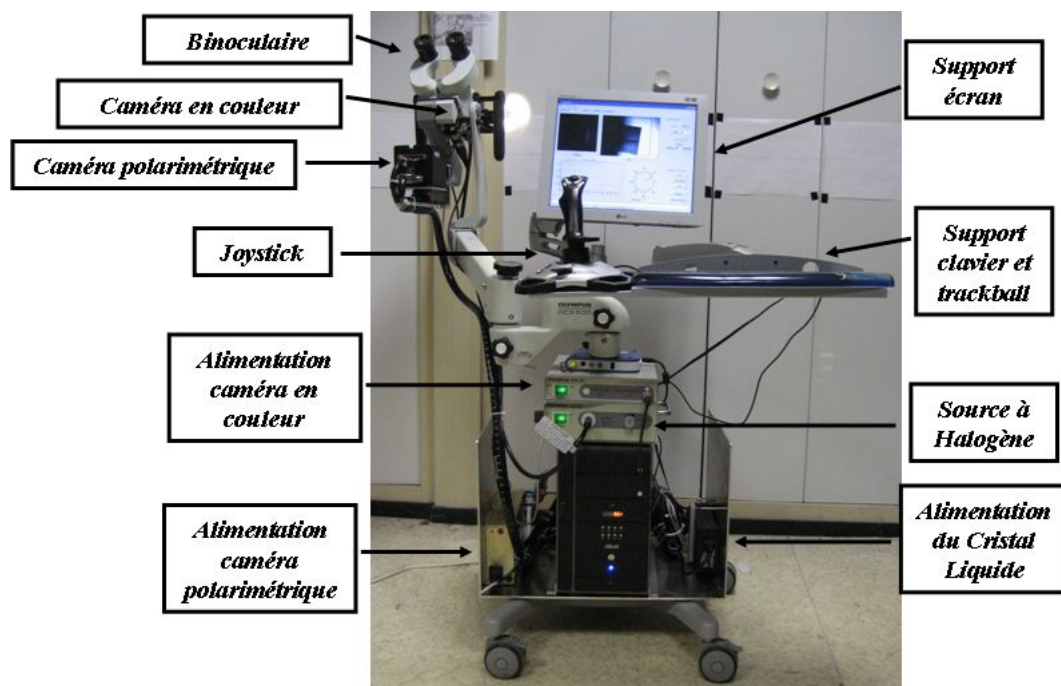


FIG. 5.34 – Vue de l'ensemble du colposcope polarimétrique.

5.6 Essai clinique

Suite à ces résultats encourageants, nous avons décidé d'évaluer notre appareil dans le cadre d'un essai clinique. Après l'autorisation de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) le 22 décembre 2006 et également l'autorisation du Comité de Protection des Personnes (CPP) le 14 mars 2007, l'essai clinique a démarré le 23 avril 2007 à l'Institut Mutualiste Montsouris, Paris.

5.6.1 Résumé du protocole

Le protocole proposé (figure 5.35) peut être résumé comme suit : chaque patiente incluse dans l'étude à la suite d'un frottis suspect est examinée, lors d'une première consultation, en colposcopie classique. Une deuxième consultation, deux semaines plus tard, est consacrée à l'imagerie polarimétrique. Des biopsies sont réalisées sur les zones jugées suspectes par l'une ou l'autre des deux techniques, ainsi que dans une zone prédéfinie¹, quelle que soit l'impression colposcopique ou polarimétrique sur cette zone. Les résultats sont communiqués à la patiente au cours d'une troisième consultation. Une conisation est proposée si une suspicion de dysplasie sévère est apparue à une étape quelconque de l'étude (frottis, colposcopie classique, polarimétrie). Les pièces de conisation font ensuite l'objet d'une étude anatomopathologique détaillée. Les sensibilité, spécificité, et valeurs prédictives positive et négative de la colposcopie classique et en imagerie polarimétrique sont déterminées par une analyse statistique des résultats des biopsies d'une part, et des conisations d'autre part.

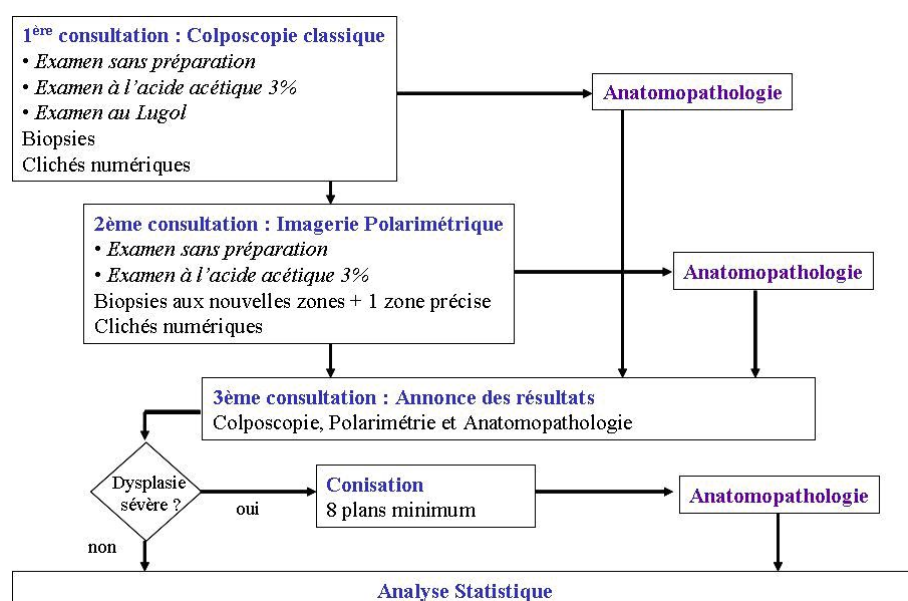


FIG. 5.35 – Protocole

Le fait que la première consultation soit entièrement dédiée à un examen colposcopique classique garantit qu'en tout état de cause la qualité de la prise en charge sera au moins égale à celle de la pratique courante. D'autres protocoles, regroupant la colposcopie classique et la polarimétrie en une seule consultation auraient l'avantage de diminuer de trois à deux le nombre total de consultations, mais au prix soit d'une modification de la pratique habituelle en colposcopie classique pouvant introduire un risque inacceptable (en l'occurrence, la suppression

¹La possibilité de calculer la spécificité de chacune des techniques suppose que soient réalisées des biopsies d'histologie négative pour lesquelles la colposcopie classique et/ou la polarimétrie étaient négatives. C'est la raison pour laquelle on procèdera à une biopsie non dirigée par un examen, mais au contraire à réaliser dans une zone imposée a priori au clinicien.

du Lugol), soit d'une perte de significativité du test, la colposcopie classique et la polarimétrie devant être alors trop "imbriquées" pour éviter une influence réciproque au niveau du choix des biopsies. Une alternative possible aurait été une étude en deux bras (colposcopie seule et colposcopie couplée à la polarimétrie en un seul examen), mais ce choix aurait nécessité une augmentation importante du nombre de patientes.

Il y a éventuellement un risque de traumatisme du col, du fait que les patientes sont susceptibles d'avoir plus de biopsies du col que lors d'un examen classique : d'une part parce que la polarimétrie peut permettre de mettre en évidence des zones dysplasiques invisibles en colposcopie classique et d'autre part en raison de la biopsie non orientée pratiquée dans la zone prédéfinie. Pourtant, par rapport à la pratique courante, le nombre moyen de biopsies augmente de un ou deux. Il s'agit d'un geste très peu invasif (on utilisera des pinces de 2 mm), comportant donc un risque très faible de traumatisme du col. C'est cette même notion de risque très faible qui nous a conduits à prévoir une biopsie supplémentaire non orientée par les observations, en une zone prédéfinie : sans information de ce type, seules les valeurs prédictives positives des différentes techniques seraient accessibles, et non les sensibilités et spécificités.

Ensuite, il y a effectivement un allongement de la durée de prise en charge. Le protocole défini ci-dessus prévoit trois consultations au lieu des deux habituellement proposées avant la décision de pratiquer ou non une conisation. Cette consultation allonge la durée de la prise en charge de deux semaines. Mais compte tenu des temps typiques d'évolution de la pathologie (figure 5.4), l'allongement de la prise en charge de deux semaines a une influence négligeable sur le pronostic, même dans les cas extrêmes de carcinome invasif.

Puis, le bénéfice escompté est significatif pour la patiente, si la polarimétrie s'avère effectivement supérieure à la colposcopie : on peut espérer détecter en polarimétrie des zones dysplasiques invisibles en colposcopie classique, et proposer ainsi une stratégie thérapeutique mieux ciblée.

5.6.2 Images en degré de polarisation in-vivo

Même si l'essai clinique à l'Institut Mutualiste Montsouris vient de démarrer et nous ne disposons pas pour le moment ni des résultats statistiques, ni les rapports d'anatomopathologie, nous tenons à montrer les premières images acquises respectivement en colposcopie classique et polarimétrique.

La figure 5.36 correspond à l'image du col d'une patiente imagé après l'application de l'acide acétique lors de sa première consultation en colposcopie classique. Nous constatons un blanchissement dû à l'acide acétique qui recouvre pratiquement la totalité de l'exocol. L'identification de la zone (la plus) pathologique pour le diagnostic et le guidage des biopsies n'est pas évident à partir d'une telle image.

Sur la figure 5.37 nous présentons les images en degré de polarisation de la même patiente, lors de sa deuxième consultation en colposcopie polarimétrique, après l'application de l'acide acétique à quatre azimuts différents, 0, 45, 90 et 135°, systématiquement enregistrées dans le cadre de l'essai clinique. Sur ces images il y a des zones qui se singularisent de manière préférentielle par le reste du tissu. Ces contrastes dépendent fortement de l'azimut, comme attendu. Nous attirons l'attention sur la zone indiquée par la flèche blanche sur l'image acquise à 90°. C'est une zone qui apparaît plus blanche et donc moins dépolarisante par rapport aux tissus voisins. Alors, en colposcopie polarimétrique, le gynécologue serait plutôt amené à effectuer une biopsie sur cet endroit, information qu'il n'a pas sur l'image en colposcopie classique montrée ci-dessus.



FIG. 5.36 – Image en colposcopie classique après l'application de l'acide acétique, enregistrée dans le cadre de l'essai clinique.

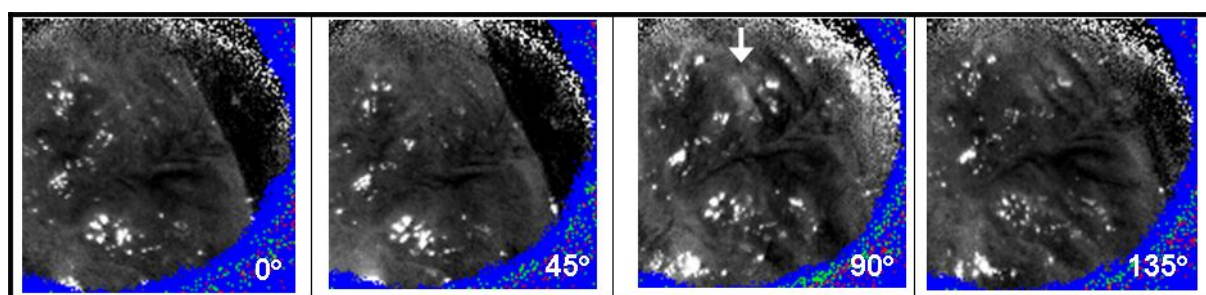


FIG. 5.37 – Images en degré de polarisation de la même patiente que sur la figure 5.36, lors de sa deuxième consultation en colposcopie polarimétrique, après l'application de l'acide acétique à quatre azimuts différents, 0, 45, 90 et 135°, systématiquement enregistrées dans le cadre de l'essai clinique.

5.6.3 Images de Mueller des pièces opératoires ex vivo

En marge de l'essai clinique, nous bénéficions de l'opportunité d'étudier les conisations extraites à l'Institut Mutualiste Montsouris avec le polarimètre de Mueller en réflexion décrit au chapitre 3 et comparer nos résultats avec les rapport d'anatomopathologie de l'équipe de Dr. Pierre Validire. Même s'il s'agit d'un travail qui vient de commencer et par conséquent, si nous ne disposons pas encore les rapports d'anatomopathologies pour les pièces opératoires imagées, nous tenons à présenter les premiers images qui paraissent intéressantes.

Matrices de Mueller

Tout d'abord, nous présentons la matrice de Mueller d'une conisation imagée à quatre longueurs d'onde : 500, 550, 600 et 700 nm (figures respectivement 5.38 à 5.41).

Par rapport aux échantillons de peau étudiés précédemment, ces images présentent à la fois des similitudes et des différences notables :

- Les termes dominants sont les termes diagonaux, ce qui indique que ces tissus sont en première approximation des *dépolariseurs* anisotropes, qui dépolarisent plus la polarisation circulaire que la linéaire. L'image en M_{44} présente en effet les mêmes motifs (les mêmes zones moins dépolarisantes) que les M_{33} et M_{22} , mais avec une valeur absolue plus faible.
- Il est intéressant de remarquer que ces zones moins dépolarisantes sont aussi les plus claires sur l'image en M_{11} , contrairement à la tendance inverse qu'on observe généralement.
- La dépolarisation augmente globalement avec la longueur d'onde, mais le point remarquable est la disparition complète à 700 nm des contrastes (zones moins dépolarisantes)

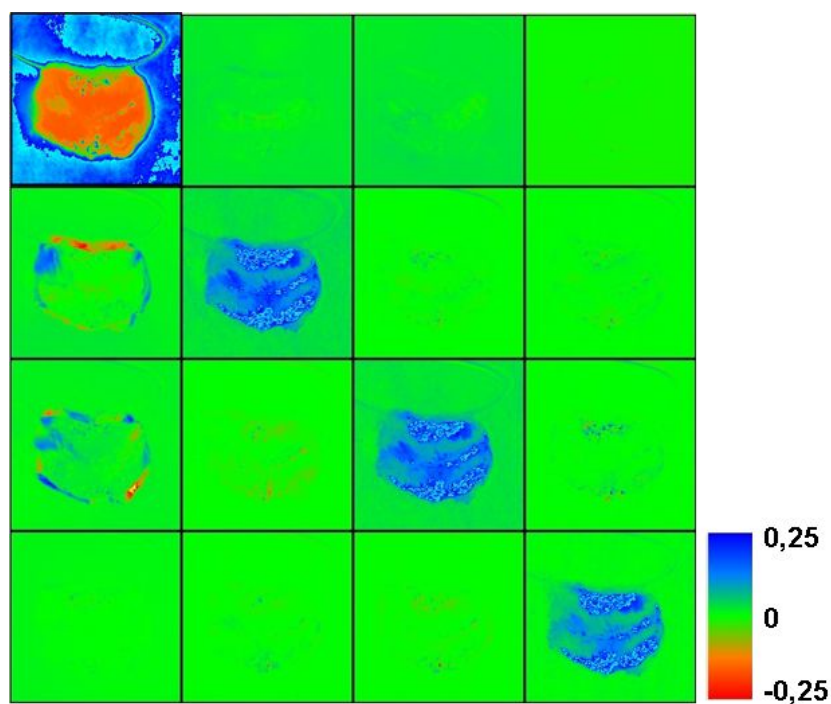


FIG. 5.38 – Matrice de Mueller d'une conisation imagée à 500 nm. L'échelle en couleur varie de -0,25 (rouge) à 0,25 (bleu) pour tous les éléments de la matrice de Mueller, à l'exception du M_{11} , pour lequel, afin de permettre sa visualisation, elle varie de 0 (rouge) à 0,3 (bleu).

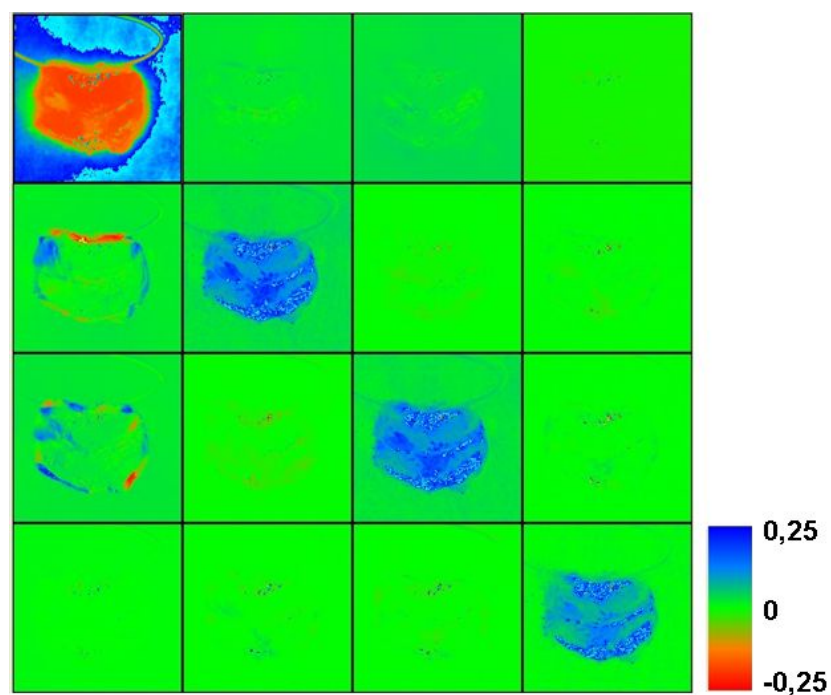


FIG. 5.39 – Matrice de Mueller de la même conisation que celle présentée sur la figure 5.38 imagée à 550 nm. L'échelle en couleur varie de -0,25 (rouge) à 0,25 (bleu) pour tous les éléments de la matrice de Mueller, à l'exception du M_{11} , pour lequel, afin de permettre sa visualisation, elle varie de 0 (rouge) à 0,5 (bleu).

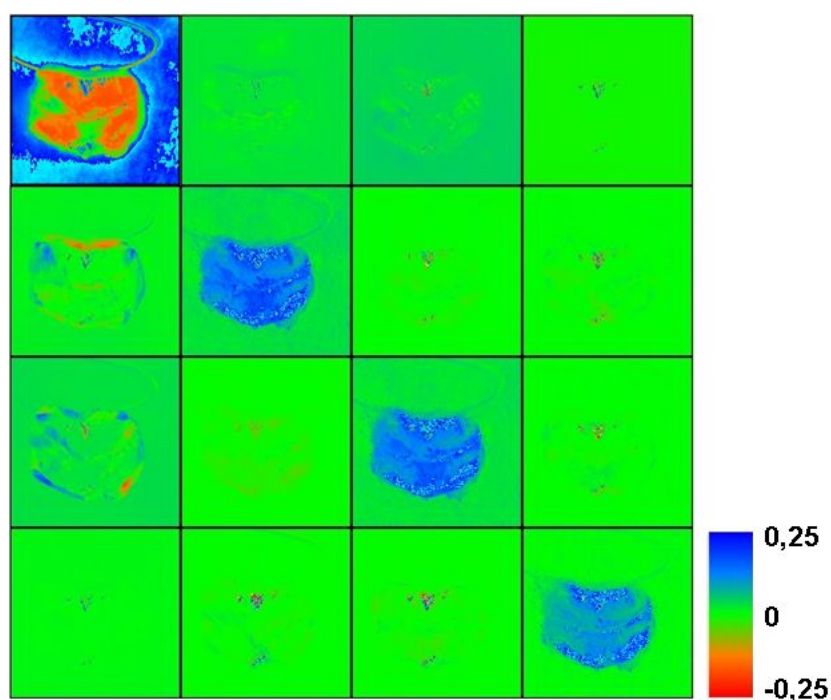


FIG. 5.40 – Matrice de Mueller de la même conisation que celle présentée sur la figure 5.38 imagée à 600 nm. L'échelle en couleur varie de -0,25 (rouge) à 0,25 (bleu) pour tous les éléments de la matrice de Mueller, à l'exception du M_{11} , pour lequel, afin de permettre sa visualisation, elle varie de 0 (rouge) à 0,5 (bleu).

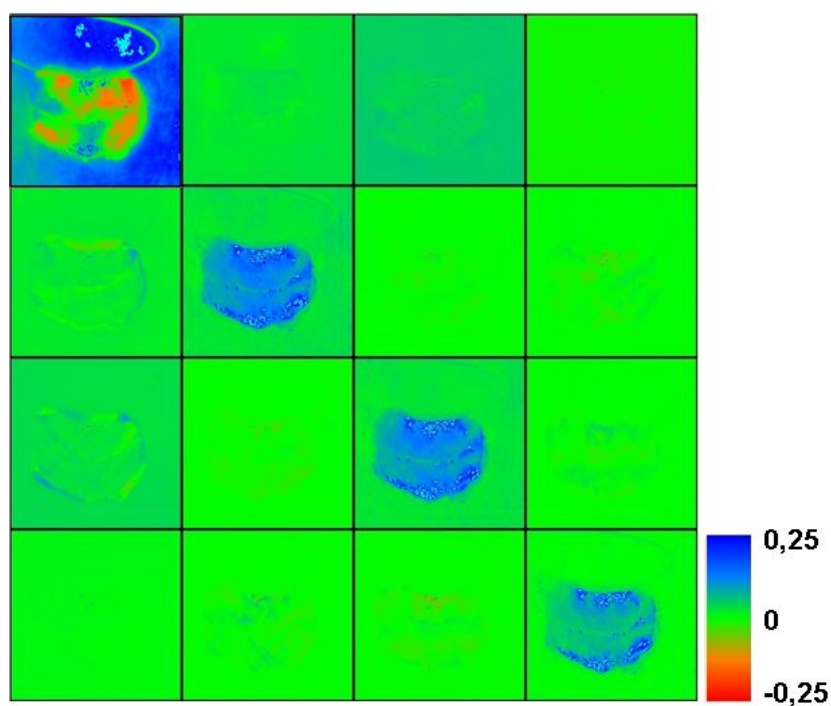


FIG. 5.41 – Matrice de Mueller de la même conisation que celle présentée sur la figure 5.38 imagée à 700 nm. L'échelle en couleur varie de -0,25 (rouge) à 0,25 (bleu) pour tous les éléments de la matrice de Mueller, à l'exception du M_{11} , pour lequel, afin de permettre sa visualisation, elle varie de 0 (rouge) à 0,5 (bleu).

clairement visibles sur les termes diagonaux aux trois autres longueurs d'onde.

- Enfin, on observe une *polarisation linéaire* marquée en haut à gauche de la pièce, alors que le dichroïsme est partout pratiquement nul. Ce résultat indique que la lumière provenant de cette zone se polarise à la sortie du tissu, que l'on peut considérer comme un dépolariseur suivi d'un dichroïque, pour lequel la décomposition inverse décrite dans le chapitre 2 paraît mieux adaptée que la décomposition classique. La partie où apparaît cette polarisation était inclinée par rapport au support. La polarisation observée paraît bien liée à un angle de vue élevé, et disparaît elle aussi à 700 nm.

Dépolarisation et polarisation

Nous avons effectivement appliqué la décomposition inverse à ces images de Mueller. Ici nous présentons les résultats sur le dichroïsme et la dépolarisation obtenus de cette manière à la longueur d'onde que nous avons choisie pour l'essai clinique, 550 nm, et à une longueur d'onde plus élevée, 700 nm (figure 5.42). Nous constatons qu'à 550 nm, où nous avons décidé de travailler, du moins dans un premier temps, les contrastes sont plus forts entre les différentes zones et il y a une quantité plus importante d'informations sur ces images.

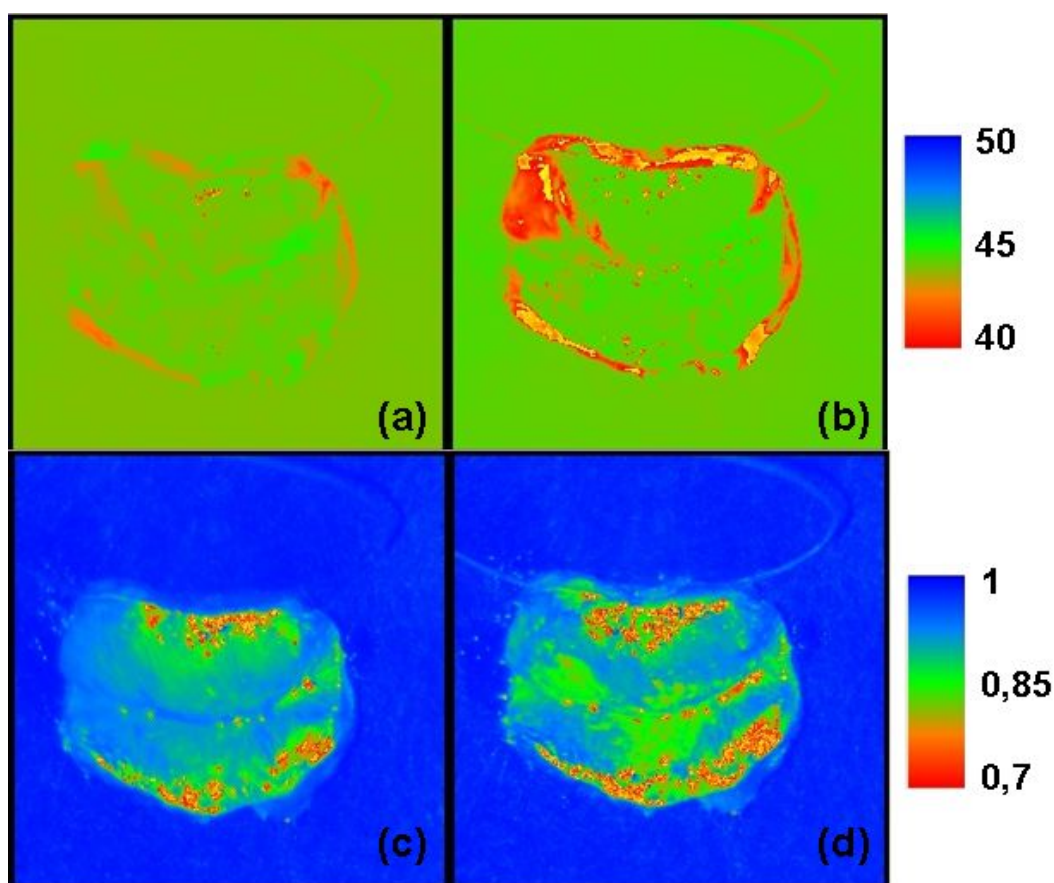


FIG. 5.42 – Dichroïsme en degrés (en haut) et dépolarisation (en bas) issus par la décomposition inverse de la matrice de Mueller de la conisation imagée sur les figures 5.41 et 5.39 à 700 (à gauche) et 550 nm (à droite).

Les images ci-dessous précisent les caractéristiques quantitatives de la polarisation, soit sa valeur scalaire (exprimée en degrés d'angle ellipsométrique Ψ) et son orientation ainsi que son ellipticité. Ces résultats indiquent clairement qu'à la sortie de l'échantillon la lumière a tendance à se polariser linéairement dans le plan p .

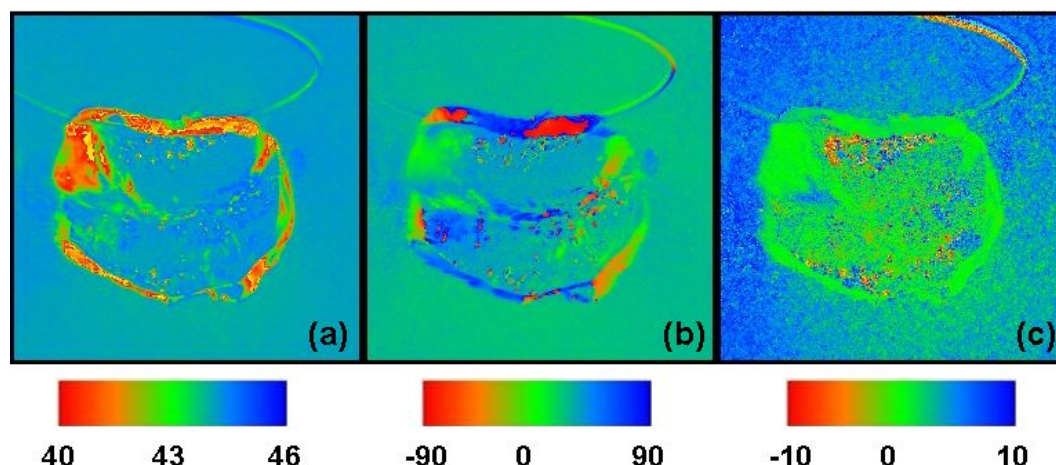


FIG. 5.43 – Polarisation scalaire en degrés (a), orientation du vecteur polarisation (b) et ellipticité de la polarisation(c) de la même conisation.

DOP linéaire et circulaire

Sur la figure 5.44 nous présentons le degré de polarisation linéaire de la même conisation, calculé à partir de la matrice de Mueller aux quatre azimuts qui sont définis pour l'essai clinique : 0, 45, 90 et 135°. Nous constatons que les nuances dépendent de l'azimut d'une manière similaire à ce qui est observé in-vivo et qu'il y a des zones qui se singularisent à certains azimuts et pas à d'autres.

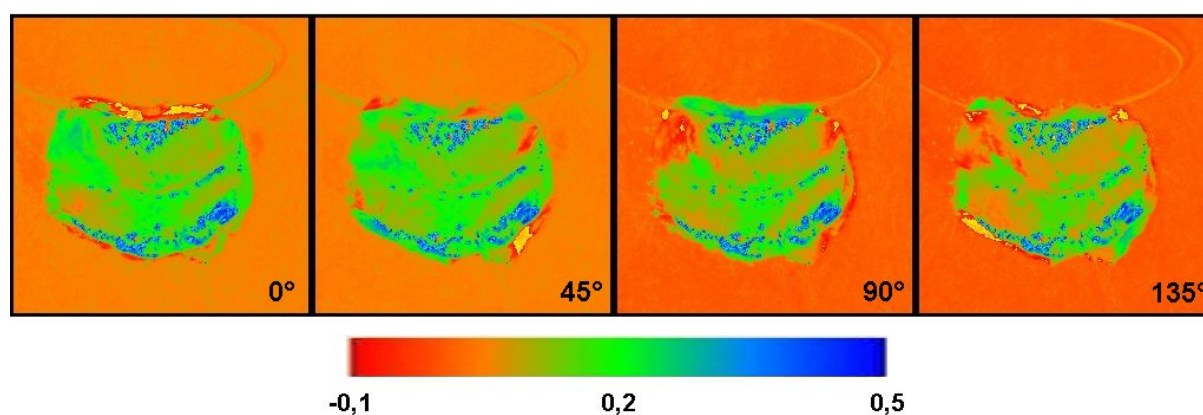


FIG. 5.44 – Degré de polarisation linéaire de la conisation imagée sur la figure 5.39 à 550 nm à quatre azimuts : 0, 45, 90 et 135°.

Enfin, nous présentons les images en degré de polarisation circulaire de la même conisation, recalculé à partir des matrices de Mueller aux quatre longueurs d'onde (figure 5.45). Nous voyons se singulariser pratiquement les mêmes zones que sur les images en DOP linéaire, mais avec des contrastes plus faibles, et sans contribution de la polarisation linéaire bien entendu.

Ces images suggèrent que la longueur d'onde choisie (550 nm) est bien celle qui fournit le plus d'informations (dont nous espérons qu'elles s'avèreront pertinentes). Il reste à déterminer si la polarisation linéaire liée à l'angle de vue peut contribuer à améliorer le contraste entre zones saines et zones dysplasiques ou s'il faut la considérer comme un artéfact à éliminer. IL faut rappeler à ce sujet que pour les 76 conisations imagées en DOP "à la main" avant le début de ce travail la polarisation était basculée dans le bras d'entrée, et donc les contrastes observés sur les images 5.14 et 5.15 ne peuvent être dus uniquement à la polarisation. Ceci étant, en fonction des résultats d'anatomopathologie, si cet effet de polarisation (qu'il faudra de toute

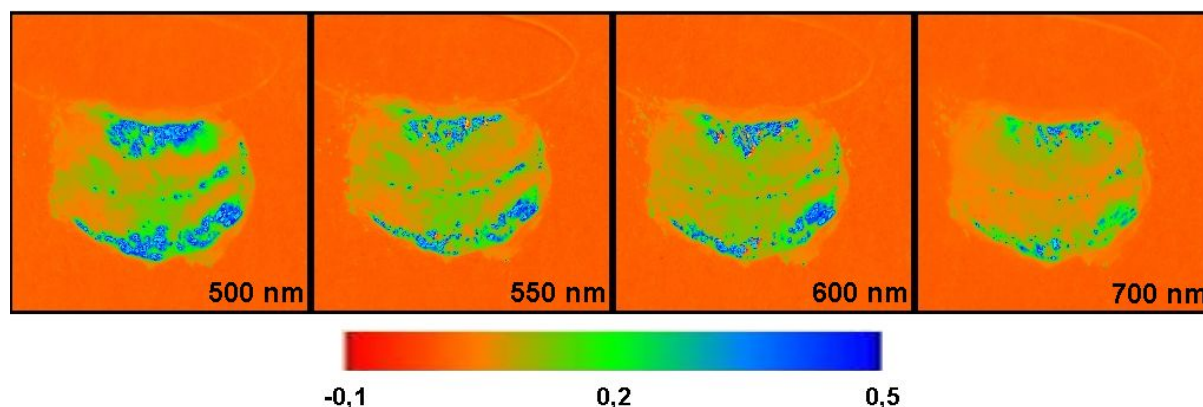


FIG. 5.45 – Degré de polarisation circulaire de la même conisation à quatre longueurs d'onde : 500, 550, 600 et 700 nm.

façon comprendre par une modélisation adéquate) s'avérerait finalement plus nuisible qu'utile, on peut envisager de passer pour l'in vivo à un DOP linéaire avec modulation à l'entrée (et en gardant le degré de liberté d'un azimuth réglable) ou à un DOP circulaire, plus simple à implémenter, mais susceptible de donner de moins bons contrastes.

5.7 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons décrit toute la démarche depuis les toutes premières mesures du degré de polarisation sur des pièces opératoires ex vivo qui suggèrent que les parties (pré)cancéreuses des tissus sont moins dépolarisantes que les parties saines, avec un DOP plus élevé, jusqu'au développement d'un imageur en degré de polarisation in vivo et en temps réel, sa première évaluation sur des patientes in vivo et le lancement d'un essai clinique pour son évaluation définitive. Déjà, sur les premières images in vivo obtenues dans le cadre de cet essai clinique, nous obtenons en imagerie polarimétrique des contrastes bien différents de l'imagerie conventionnelle, ce qui encourage l'utilisation de la polarimétrie dans ce but. Par ailleurs l'étude des images de Mueller des pièces opératoires ex vivo a fourni des informations tout à fait pertinentes pour l'amélioration de la technique et pour la mise en place d'un modèle réaliste reproduisant les effets observés de la longueur d'onde et de la géométrie d'observation, avec, en particulier, l'apparition d'une polarisation sur les zones vues sous un angle élevé, sans contrepartie au niveau du dichroïsme. Un autre effet remarquable est la disparition à 700 nm des contrastes vus aux longueurs d'onde plus petites.

Conclusions

Ce travail a été consacré au développement d'instrumentation optique pour des applications biomédicales. La technique que nous utilisons est la polarimétrie. Nous avons développé deux instruments : un polarimètre de Mueller en réflexion et un appareil médical dédié à l'examen du col utérin (colposcope) pour l'imagerie en degré de polarisation en temps réel. Les applications ont été de deux types : la visualisation des brûlures radiologiques à un niveau infraclinique et l'amélioration du diagnostic du cancer du col utérin.

Dans un premier temps, nous avons poursuivi le développement et l'optimisation du polarimètre de Mueller imageur à cristaux liquides que nous utilisons pour les différentes thématiques déjà présentées. Les améliorations ont porté sur divers aspects du fonctionnement de l'instrument, et notamment la réduction du bruit lié aux fluctuations de la source lumineuse et les artefacts introduits par la nonlinéarité de la caméra, deux problèmes rencontrés fréquemment en instrumentation optique.

Cet imageur a été utilisé par la suite pour l'étude des *brûlures d'origine radiologique* à un stade où les lésions cutanées ne sont pas encore visibles. Nous avons travaillé sur un modèle animal (porcs irradiés à des doses et sur des zones connues) dans le cadre d'une collaboration financée par la DGA entre le CRSSA (Centre de Recherche du Service de Santé des Armées, à Grenoble), l'IRSN (Institut de Recherche sur la Sécurité Nucléaire, à Fontenay-aux-Roses) et le laboratoire LSOL de l'Université de Bretagne Occidentale. Nous avons effectué seize missions à Grenoble pour imager avec notre polarimètre de Mueller à différentes longueurs d'onde entre 500 et 700 nm des porcs irradiés jusqu'à 60 Gy, à différents délais après l'irradiation, in vivo et sur des biopsies cutanées.

La première analyse des données sur les biopsies indique que la dépolarisation diminue avec la longueur d'onde, ainsi qu'avec l'augmentation de la dose d'irradiation. De cette manière nous pouvons distinguer les échantillons de doses différentes. Le délai depuis l'irradiation joue également. Nous ne constatons aucun effet ni pendant des périodes très courtes après l'irradiation (p.e. 2 jours après), ni pendant des périodes très longues après (p.e. 1 an plus tard).

En revanche, l'imagerie in vivo s'est avérée délicate du fait des mouvements respiratoires de l'animal pendant l'acquisition des images. Par conséquent, un logiciel de "recalage" de ces images a été développé par Steve Guyot, en séjour post-doctorale dans notre laboratoire. Une fois toutes les données recalées, nous avons pu les traiter. De cette manière, nous avons pu observer une certaine cinétique sur le développement de ce type de lésions. Nous avons constaté qu'il y a des incitateurs plus simples que la matrice de Mueller complète, tels que le degré de polarisation circulaire ou linéaire, qui pourraient être mis en place dans un système de mesure in vivo plus rapide, afin de diagnostiquer les zones irradiées.

En ce qui concerne notre recherche sur le *diagnostic du cancer du col de l'utérus*, nous avons développé une approche de diagnostic in vivo et en temps réel. Un système opto-mécanique, accompagné par un logiciel de commande des composants électro-optiques, d'acquisition en temps réel d'images en degré de polarisation ont été développés et intégrés sur un colposcope commercial. L'appareil a été testé dans le cabinet du gynécologue Dr. Bernard Huynh, avec qui nous

collaborons, avec les premiers résultats révélant les tissus (pré)cancéreux moins dépolarisants que les tissus sains.

Suite à ces résultats encourageants, nous avons finalisé les améliorations à notre appareil suivant les conseils des médecins utilisateurs et nous avons fait la démarche pour un essai clinique à l'Institut Mutualiste Montsouris et l'Hôpital Montreuil dans un deuxième temps, sur 140 patientes, qui a commencé en avril 2007. Ce projet fait l'objet d'un financement ANR (RNTS) pour une collaboration entre le PICM, le LSIIT (université de Strasbourg), l'Institut Mutualiste Montsouris (IMM), l'Hôpital Montreuil, la Pitié-Salpêtrière et la société Jobin-Yvon.

En parallèle, nous avons suivi continûment les consultations à l'IMM dans le cadre de cette essai clinique, afin d'établir un transfert correct des connaissances sur l'utilisation de l'appareil par les médecins. Par la suite, il faudra dupliquer cet appareil afin de pouvoir l'utiliser dans les deux hôpitaux simultanément.

Ces recherches sur le diagnostic du cancer du col utérin comportent aussi une composante "amont", dont l'objet est de comprendre l'origine des contrastes observés, et, dans un deuxième temps, d'optimiser la technique de mesure et de traitement des images pour faire ressortir au mieux les lésions précancéreuses (dysplasies), indépendamment de l'orientation de l'échantillon. Plus précisément, il s'agit :

- D'une part, de réaliser des images en Mueller complet de conisations *ex vivo*, c'est-à-dire de cols utérins extraits pour suspicion de dysplasies sévères, les images étant acquises juste après l'exérèse chirurgicale. En effet, contrairement à la technique d'imagerie en degré de polarisation mise en œuvre pour l'instant sur le colposcope, ces images contiennent toutes les informations concernant les propriétés polarimétriques de ces échantillons, et peuvent permettre de définir la meilleure façon d'exploiter ces propriétés.
- D'autre part, d'étudier des "*tissus fantômes*" artificiels (suspensions de microbilles de polystyrène), à la fois expérimentalement, au moyen d'un polarimètre en réflexion dédié et théoriquement, par les simulations de type Monte-Carlo. Les premiers résultats expérimentaux sur des billes de polystyrène sont présentés dans l'annexe B et constitueront le sujet d'une prochaine thèse.

Nous avons également démontré expérimentalement la validité de la décomposition inverse proposé par R. Ossikovski *et al.* [3], qui décrit toute matrice de Mueller comme un produit d'un dépolariseur, un diatténuateur et un retardateur, avec le diatténuateur positionné après le dépolariseur. Contrairement à la très connue décomposition de Lu et Chipman [9], qui donne des valeurs erronées pour la diatténuation scalaire pour des systèmes de dépolarisation élevée, la décomposition inverse arrive à donner des valeurs précises pour chaque composant. Cette décomposition peut être intéressante comme outil de traitement des images des échantillons biologiques, qui peuvent être considérés comme un système d'un dépolariseur (volume du tissu), suivi par un diatténuateur (surface de la peau à la sortie de la lumière). Son application sur les échantillons étudiés au cours de ce travail est également présentée.

Bibliographie

- [1] Smith, M.H., *"Interpreting Mueller Matrix Images of Tissues"*, Proceedings SPIE **4257** 82-89 (2001)
- [2] Smith, M.H., P. Burke, A. Lompadó, E. Tanner and L.W. Hillman, *"Mueller matrix imaging polarimetry in dermatology"*, Proceedings SPIE 3911, 210 (2000)
- [3] Ossikovski, R., A. De Martino and S. Guyot, *"Forward and Reverse Product Decompositions of Depolarizing Mueller Matrices"*, Optics Letters **32** 689 (2007)
- [4] Boulvert, F., *"Analyse de milieux fortement diffusants par polarimétrie de Mueller et méthodes optiques cohérentes. Application à l'étude du syndrome cutané d'irradiation aiguë."*, Thèse de Doctorat, Université de Bretagne Occidentale, Brest (2006)
- [5] Huard, S., *"Polarisation de la lumière"*, Masson, Paris (1994)
- [6] Azzam R.M.A. and N.M. Bashara, *"Ellispometry and Polarized Light"*, North Holland, Oxford (1977)
- [7] Bass, M. (ed.), *"Handbook of Optics"*, McGraw-Hill, New York, 2^{ème} édition (2001)
- [8] Brosseau C., *"Fundamentals of Polarized Light. A Statistical Optics Approach."*, John Wiley & Sons, New York (1998)
- [9] Lu, S.-Y. and A. Chipman, *"Interpretation of Mueller Matrices Based on Polar Decomposition"*, Journal of Optical Society of America A **13** 5 1106-1113 (1996)
- [10] Gil, J.J. and E. Bernabeu, *"A depolarization criterion in Mueller matrices"*, Optica Acta **32** 259-261 (1986)
- [11] Shurcliff, W.A., *"Polarized Light Production and Use"*, Harvard University Press, Massachusetts (1962)
- [12] Anderson, D.G.M. and R. Barakat, *"Necessary and Sufficient Conditions for a Mueller Matrix to be Derivable from a Jones Matrix"*, Journal of Optical Society of America A **11** 8 2305-2319 (1994)
- [13] Le Roy-Bréhonnet, F., B. Le Jeune, P. Eliès, J. Cariou and J. Lotrian, *"Optical Media and Target Characterization by Mueller Matrix Decomposition"*, Journal of Physics D **29** 34 (1996)
- [14] Morio, J. and F. Goudail, *"Influence of the Order of Diattenuator, Retarder, and Polarizer in Polar Decomposition of Mueller Matrices"*, Optics Letters **29** 19 1-3 (2004)
- [15] Anastasiadou, M., S. Ben Hatit, R. Ossikovski, S. Guyot and A. De Martino, *"Experimental validation of the reverse polar decomposition of depolarizing Mueller matrices"*, Journal of the European Optical Society **2** 07018 (2007)
- [16] Sankaran, V., J.T. Walsh and D.J. Maitland, *"Comparative Study of Polarized Light Propagation in Biologic Tissues"*, Journal of Biomedical Optics **7** 3 (2002)
- [17] Laude-Boulesteix, B., A. De Martino, B. Drévilon and L. Schwartz, *"Mueller polarimetric imaging system with liquid crystals"*, Applied Optics **43** 14 2824-2832 (2004)

- [18] Laude-Boulesteix, B., *"Développements instrumentaux en imagerie tomographique et polarimétrique"*, Thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique, Palaiseau (2004)
- [19] Compain, E., S. Poirier and B. Drévillon, *"General and Self-Consistent Method for the Calibration of Polarization Modulators, Polarimeters, and Mueller-Matrix Ellipsometers"*, Applied Optics **38** 16 (1999)
- [20] Eric Compain, *"Conception et Réalisation d'un Ellipsomètre de Mueller Achromatique Fonctionnant en Temps Réel"*, Thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique, Palaiseau (1999)
- [21] Kaplan, B., *"Applications Métrologiques de l'Ellipsomètre de Mueller"*, Thèse de Doctorat, Ecole Polytechnique, Palaiseau (2002)
- [22] Ainouz, S., *"Analyse et Traitement d'Images Multidimensionnelles de Polarisation"*, Thèse de Doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg (2006)
- [23] Tyo, J.S., *"Noise Equalization in Stokes Parameter Images Obtained by Use of Variable-Retardance Polarimeters"*, Optics Letters **25** 16 1198-1200 (2000)
- [24] Smith, M.H., *"Optimization of a Dual-Rotating-Retarder Mueller Matrix Polarimeter"*, Applied Optics **41** 13 2488-2493 (2002)
- [25] Press, W.H., S.A. Teukolsky, W.T. Vetterling et B.P. Flannery, *"Numerical Recipes in Pascal, The art of Scientific Computing"*, Cambridge University Press, Cambridge (1992)
- [26] Azzam, R.M.A., *"Photopolarimeter Using Two Modulated Optical Rotators"*, Optics Letters **2** 181-183 (1977)
- [27] Pezzaniti, J.L. and R.A. Chipman, *"High-Resolution Mueller Matrix Imaging Polarimetry for Understanding High-Resolution Optoelectronic Modulators"*, Photonics for Processors, Neural Networks, and Memories II, J. L. Horner, B. Javidi, and S. T. Kowel (eds.), Proceedings SPIE **2297** 468-480 (1994)
- [28] Collins, R.W. and J. Koh, *"Dual Rotating-Compensator Multichannel Ellipsometer : Instrument Design for Real-Time Mueller Matrix Spectroscopy of Surfaces and Films"*, Journal of Optical Society of America A **16** 1997-2006 (1999)
- [29] Delplancke, F., *"Automated High-Speed Mueller Matrix Scatterometer"*, Applied Optics **36** 5388-5395 (1997)
- [30] Jaspersen, S.N. and S.E. Schnatterly, *"An Improved Method for High Reflectivity Ellipsometry Based on a New Polarization Modulation Technique"*, Review of Scientific Instruments **40** 761-767 (1969)
- [31] Compain, E. and B. Drévillon, *"High-Frequency Modulation of the Four States of Polarization of Light With a Single Phase Modulator"*, Review of Scientific Instruments **69**, 1574-1580 (1998)
- [32] Tyo, J.S. and T.S. Turner, *"Imaging Spectropolarimeters for Use in Visible and Infrared Remote Sensing"*, Imaging Spectrometry V, M. R. Descour and S. S. Shen (eds.), Proceedings SPIE **3753** 214-225 (1999)
- [33] Bueno, J.M. and P. Artal, *"Double Pass Imaging Polarimetry in the Human Eye"*, Optics Letters **24** 64-66 (1999)
- [34] Meadowlark Optics, *"Polarization control with liquid crystals"*, Meadowlark Optics, Brochure du produit
- [35] De Martino, A., Y.-K. Kim, E. Garcia-Caurel, B. Laude and B. Drévillon, *"Optimized Mueller Polarimeter with Liquid Crystals"*, Optics Letters **28** 8 (2003)
- [36] De Revel, T., P. Gourmelon, D. Vidal and C. Renaudeau, *"Menace Terroriste Approche Médicale : Nucléaire Radiologique Biologique Chimique"*, John Libbey Eurotext, Montrouge (2005)

- [37] Regan, J.D. and J.A. Parrish (ed.), *"The Science of Photomedicine"*, Plenum Press, New York (1982)
- [38] Daburon, F., *"Irradiations Aiguës Localisées. Bases Radiobiologiques du Diagnostic et du Traitement"*, Les Editions de Physique, Courtaboeuf (1997)
- [39] Selb, J., *"Source virtuelle acousto-optique pour l'imagerie des milieux diffusants"*, Thèse de Doctorat, Université Paris XI, Paris (2002)
- [40] Tuchin, V., *"Tissue Optics. Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis"*, SPIE Press, Washington (2000)
- [41] Hielscher, A.H., A.A. Eick, J.R. Mourant, D. Shen, J.P. Freyer and I.J. Bigio, *"Diffuse Backscattering Mueller Matrices of Highly Scattering Media"*, Optics Express **1**(13) 441-453 (1997)
- [42] Stamnes K., Tsay S-C., Wiscombe W., Jayawerra K. *"Numerically stable algorithm for discrete-ordinate-method radiative transfer in multiple scattering and emitting layered media"*. Appl. Opt., **27**, 2502 (1988).
- [43] J.J. Stamnes, K. Stamnes, *"Diffuse imaging in turbid media"*, Communication orale au Topical Meeting on Advanced Imaging Techniques de l'EOS, Lille, 12-14 septembre 2007
- [44] Cheong, W.F., S.A. Prahl, and A.J. Welch, *"A Review of the Optical Properties of Biological Tissues"*, IEEE J. Quantum Electronics **26** 2166-2185 (1990)
- [45] Matcher, S.J., M. Cope, and D.T. Delpy, *"In Vivo Measurements of the Wavelength Dependence of Tissue-Scattering Coefficients between 760 and 900 nm Measured with Time-Resolved Spectroscopy"*, Applied Optics **36** 1 386-396 (1997)
- [46] Verkruysse, W., R. Zhang, B. Choi, G. Lucassen, L. O Svaasand and J.S. Nelson, *"A library based fitting method for visual reflectance spectroscopy of human skin"*, Phys. Med. Biol. **50** 57-70 (2005)
- [47] Ding, H., J.Q. Lu, W.A. Wooden, P.J. Kragel and X.-H. Hu, *"Refractive Indices of Human Skin Tissues at Eight Wavelengths and Estimated Dispersion between 300 and 1600 nm"*, Phys. Med. Biol. **51** 1479-1489 (2006)
- [48] Jacques, S.L., *"Origins of Tissue Optical Properties in the UVA, Visible, and NIR Regions"*, OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration 2, R.R. Alfano and J.G. Fujimoto (eds.), 364-371 (1996)
- [49] Hardy, J.D., H.T. Hammel and D. Murgatroyd, *"Spectral Transmittance and Reflectance of Excised Human Skin"*, J. Appl. Physiol. **9** 257-264 (1956)
- [50] Yaroslavskii, I.V. and V.V. Tuchin, *"Light Propagation in Multilayer Scattering Media : Modelling by the Monte Carlo Method"*, Opt. Spectrosc. **72** 4 505-509 (1992)
- [51] Srinivas, S.M., J.F. De Boer, H. Park, K. Keikhanzadeh, H.L. Huang, J. Zhang, W.Q. Jung, Z. Chen and J.S. Nelson, *"Determination of Burn Depth by Polarization-Sensitive Optical Coherence Tomography"*, Journal of Biomedical Optics **9** 1 207-212 (2004)
- [52] Mowafy, M. and R.G. Cassens, *"Microscopic Structure of Pig Skin"*, Journal of Animal Science **41** 5 1281-1290 (1975)
- [53] Lefaix, J.-L., M. Martin, Y. Tricaud and F. Daburon, *"Muscular Fibrosis Induced after Pig Skin Irradiation with Single Doses of ^{192}Ir γ -rays"*, The British Journal of Radiology **66** 786 537-544 (2003)
- [54] Rémy, J., J. Wegrowski, F. Créchet, M. Martin, F. Daburon, *"Long-Term Overproduction of Collagen in Radiation-Induced Fibrosis"*, Radiat. Res., **125** 14 (1991)
- [55] Chalansonnet, A., N. El Kamouni, A. Briguët, F. Daburon and J.-L. Lefaix, *"Mise en Evidance des Effets d'une Irradiation Aiguë Localisée par Imagerie de Résonance Magnétique du Tissu Cutané"*, Radioprotection **28** 4 411-421 (1993)

- [56] Delanian, S. and J.-L. Lefaix, "*Évaluation des Modifications Radio-Induites Tardives de la Microcirculation Superficielle. I. Apport Clinique du Laser Doppler Cutané*", Cancer/Radiotherapy **4** 408-414 (2000)
- [57] Delanian, S. and J.-L. Lefaix, "*Évaluation des Modifications Radio-Induites Tardives de la Microcirculation Superficielle après Irradiation Aiguë β . II. Intérêt Pronostique du Laser Doppler Cutané*", Cancer/Radiotherapy **4** 415-420 (2000)
- [58] Perderau, B., F. Brixy, R. Pennarola, C. Gauron and J.M. Cosset, "*Contrôle Capillaroscopique Sous-Unguéal des Personnels Radio-Exposés : Résultats Préliminaires et Incidence en Radioprotection*", Radioprotection **35** 3 335-366 (2000)
- [59] Jiao, S., W. Yu, G. Stoica and L.V. Wang, "*Contrast Mechanisms in Polarization-Sensitive Mueller-Matrix Optical Coherence Tomography and Application in Burn Imaging*", Applied Optics, **42** 25 5191-5197 (2003)
- [60] Oh, J.-T., S.-W. Lee, Y.-S. Kim, K.-B. Suhr and B.-M. Kim, "*Quantification of the Wound Healing Using Polarization-Sensitive Optical Coherence Tomography*", Journal of Biomedical Optics **11** 4 041124 (2006)
- [61] Boulvert, F., B. Boulbry, G. Le Brun, B. Le Jeune, S. Rivet and J. Cariou, "*Analysis of the Depolarizing Properties of Irradiated Pig Skin*", J. Opt A : Pure Appl. Opt **7** 21-28 (2005)
- [62] Direction de la radioprotection de l'homme, "*Etude Phenomenologique Comparative de la Brûlure Thermique et du Syndrome Cutané d'Irradiation Aiguë*", Rapport Annuel d'Avancement n°2, PEA 01 08 07 "Contre-mesures médicales et décontamination" (2007)
- [63] Guyot, S., M. Anastasiadou, E. Deléchelle and A. De Martino, "*Registration Scheme Suitable to Mueller Matrix Imaging for Biomedical Applications*", Optics Express **15** (12) 7393-7400 (2007)
- [64] Chérié-Challine, L. and M. Boussac-Zarebska, "*Variations Géographiques des Décès par Cancers Accessibles au Dépistage dans les Régions Métropolitaines, France, 1998-2002*", Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire **9-10** 70-73 (2007)
- [65] Andrieu, J.-M. (ed.), "*Biologie des Cancers*", Ellipses, Paris (1991)
- [66] Vasseur, M., "*Les Virus Oncogènes*", Hermann, Paris (1989)
- [67] Suzan F, Séblain C, Boussac-Zarebska M, Poillot ML, Arveux P, Laurent F. and Carré N. "*Etude de la Répartition des «Cancers de l'Utérus, Sans Autre Information» des Certificats de Décès en Cancers du Col et du Corps*", Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire **9-10** 79-81 (2007)
- [68] Bossard, N., M. Velten, L. Remontet, A. Belot, N. Maarouf, A.M. Bouvier, A.V. Guizard, B. Trétarre, G. Launoy, M. Colonna, A. Danzon, F. Molinié, X. Troussard, N. Bourdon-Raverdy, P.M. Carli, A. Jaffré, C. Bessagnet, E.A. Sauleau, C. Schvartz, P. Arveux, M. Maynadié, P. Grosclaude, J. Estève and J. Faivre, "*Survie des Patients Atteints de Cancer en France : Etude à Partir des Données des Registres du Réseau Francim*", Bulletin Epidemiologique Hebdomadaire **9-10** 66-69 (2007)
- [69] Rican, S., E. Jouglu, D. Kerzerho, G. Gourdon and G. Salem, "*La Mortalité par Cancer en France Métropolitaine. Tendances récentes (2000-2003)*", Oncologie **8** 911-926 (2006)
- [70] Mitchell, M.F., D. Schottenfeld, G. Tortolero-Luna, S.B. Cantor and R. Richards-Kortum, "*Colposcopy for the Diagnosis of Squamous Intraepithelial Lesions : A Meta-Analysis*", Obstetrics and Gynecology **91** 4 626-631 (1998)
- [71] Anderson, M.C., J.A. Jordan, A.R. Morse and F. Sharp, "*A Text and Atlas of Integrated Colposcopy*", Chapman & Hall Medical, London (1992)
- [72] Campo, M.S., "*HPV and Cancer : The Story Unfolds*", Trends in Microbiology **6** 11 424-426 (1998)

- [73] Stoler, M.H., "A Brief Synopsis of the Role of Human Papillomaviruses in Cervical Carcinogenesis", American Journal of Obstetrics and Gynecology **175** 4.2 1091-1098 (1996)
- [74] Sancho-Garnier (Ed.), *Dépistage des Cancers*, Editions INSERM, Paris (1997)
- [75] Solomon, D., D. Devay, R. Kurman, A. Moriarty, D. O'Connor, M. Prey, S. Raab, M. Sherman, D. Wilbur, T. Wright and N. Young, "The 2001 Bethesda System. Terminology for Reporting Results of Cervical Cytology", Journal of the American Medical Association **287** 2114-2119 (2002)
- [76] Bergeron, C., I. Cartier, L. Guldner, M. Lassalle, A. Savignoni and B. Asselain, "Lésions Précancéreuses et Cancers du Col de l'Utérus Diagnostiqués par le Frottis Cervical, Ile-de-France, Enquête Crisap, 2002", Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire **2** 5-6 (2005)
- [77] Koss, L.G., "The Papanicolaou Test for Cervical Cancer Detection. A Triumph and a Tragedy.", Journal of American Medical Association **261** 5 737-742 (1989)
- [78] Steenkeste, K., S. Lécart, A. Deniset, P. Pernot, P. Eschwège, S. Ferlicot, S. Lévêque-Fort, R. Briandet and M.-P. Fontaine-Aupart, "Ex Vivo Fluorescence Imaging of Normal and Malignant Urothelial Cells to Enhance Early Diagnosis", Photochemistry and Photobiology **83** 1-10 (2007)
- [79] Drezek, R.A., T. Collier, C.K. Brookner, A. Malpica, R. Lotan, R. Richards-Kortum and M. Follen, "Laser Scanning Confocal Microscopy of Cervical Tissue Before and After Application of Acetic Acid", American Journal of Obstetrics and Gynecology **182** 5 1135-1139 (2000)
- [80] Zuluaga, A.F., R. Drezek, T. Collier, R. Lotan, M. Follen and R. Richards-Kortum, "Contrast Agents for Confocal Microscopy : How Simple Chemicals Affect Confocal Images of Normal and Cancer Cells in Suspension", Journal of Biomedical Optics **7** 3 398-403 (2002)
- [81] ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group, "Results of a Randomized Trial on the Management of Cytology Interpretations of Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance", American Journal of Obstetrics and Gynecology **188** 6 1383-1392 (2003)
- [82] ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group, "A Randomized Trial on the Management of Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion Cytology Interpretations", American Journal of Obstetrics and Gynecology **188** 6 1393-1400 (2003)
- [83] Massad, L.S. and Y.C. Collins, "Strength of Correlations between Colposcopic Impression and Biopsy Histology", Gynecologic Oncology **89** 424-428 (2003)
- [84] Belinson, J.L., R.G. Pretorius, W.H. Zhang, L.Y. Wu, Y.L. Qiao, and P. Elson, "Cervical Cancer Screening by Simple Visual Inspection After Acetic Acid", Obstetrics and Gynecology **98** 3 441-444 (2001)
- [85] Drezek, R.A., R. Richards-Kortum, M.A. Brewer, M.S. Feld, C. Pitris, A. Ferenczy, M.L. Faupel and M. Follen, "Optical Imaging of the Cervix", Cancer **98**(9 Suppl) 2015-27 (2003)
- [86] Gage, J.C., V.W. Hanson, K. Abbey, S. Dippery, S. Gardner, J. Kubota, M. Schiffman, D. Solomon and Jose Jeronimo, for the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS) Group, "Number of Cervical Biopsies and Sensitivity of Colposcopy", Obstetrics and Gynecology **108** 2 264-272 (2006)
- [87] Charvet, I., P. Meda, M. Genet, M.-F. Pelte and A.-T. Vlastos, "Diagnostic optique des lésions dysplasiques du col utérin", Bulletin Cancer **91**, 1 (2004)
- [88] Banta, H.D., C.J. Behney and D.P. Andrulis, et al., "Assessing the Efficacy and Safety of Medical Technologies", Washington, DC : Office of Technology Assessment, 14-15 (1978)
- [89] Mahadevan, A., M. Mitchell, E. Silva, S. Thomsen and R. Richards-Kortum, "A study of the fluorescence properties of normal and neoplastic human cervical tissue", Lasers Surg Med. **13** 647-655 (1993)

- [90] Ramanujam, N., M.F. Mitchell, A. Mahadevan, S. Thomsen, A. Malpica, T. Wright, N. Atkinson and R. Richards-Kortum, "*Spectroscopic Diagnosis of Cervical Intraepithelial Neoplasia (CIN) In Vivo Using Laser-Induced Fluorescence Spectra at Multiple Excitation Wavelengths*", Lasers in Surgery and Medicine **19** 63-74 (1996)
- [91] Michalet, X., F.Pinaud, T.D. Lacoste, M. Dahan, M.P. Bruchez, A.P. Alivisatos and S. Weiss, "*Properties of Fluorescent Semiconductor Nanocrystals and their Application to Biological Labeling*", Single Molecule **2** 4 261-276 (2001)
- [92] Marín, N.M., A. Milbourne, H. Rhodes, T. Ehlen, D. Miller, L. Benedet, R. Richards-Kortum and M. Follen, "*Diffuse reflectance patterns in cervical spectroscopy*", Gynecologic Oncology **99** S116 - S120 (2005)
- [93] Collier, T., A. Lacy, R. Richards-Kortum, A. Malpica and M. Follen, "*Near Real-Time Confocal Microscopy of Amelanotic Tissue : Detection of Dysplasia in Ex Vivo Cervical Tissue*", Academic Radiology **9** 5 504-512 (2002)
- [94] Rahman M., M. Abd-El-Barr, V. Mack, T. Tkaczyk, K. Sokolov, R. Richards-Kortum and M. Descour, "*Optical imaging of cervical pre-cancers with structured illumination : An integrated approach*", Gynecologic Oncology **99** S112 - S115 (2005)
- [95] Fujimoto, J.G., C. Pitris, S.A. Boppart and M.E.Brezinski, "*Optical Coherence Tomography : An Emerging Technology for Biomedical Imaging and Optical Biopsy*", Neoplasia **2**(1-2) 9-25 (2000)
- [96] Sokolov, K., M. Follen , J. Aaron, I. Pavlova, A. Malpica, R. Lotan, R. Richards-Kortum, "*Real-Time Vital Optical Imaging of Precancer Using Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibodies Conjugated to Gold Nanoparticles*", Cancer Research **63** 1999-2004 (2003)
- [97] Sapozhnikova, V.V., N.M. Shakhova, V.A. Kamensky, R.V. Kuranov, V.B. Loshenov, S.A. Petrova, "*Complementary use of optical coherence tomography and 5-aminolevulinic acid induced fluorescent spectroscopy for diagnosis of neoplastic processes in cervix and vulva*" Proceedings SPIE International Society of Optical Engineering **4956** 81-88 (2003)
- [98] Ferris, D.G., R.A. Lawhead, E.D. Dickman, N. Holtzapple, J.A. Miller, S. Grogan, S. Bambot, A. Agrawal and M.L. Faupel, "*Multimodal Hyperspectral Imaging for the Noninvasive Diagnosis of Cervical Neoplasia*", Journal of Lower Genital Tract Disease **5** 2 65-72 (2001)
- [99] Huh W.K., R.M. Cestero, F.A. Garcia, M.A. Gold , R.S. Guido, K. McIntyre-Seltman, D.M. Harper, L. Burke, S.T. Sum, R.F. Flewelling and R.D. Alvarez, "*Optical Detection of High Grade Cervical Intraepithelial Neoplasia In Vivo : Results of a 604 Patients Study*", American Journal of Obstetrics and Gynecology **190** 1249-57 (2004)
- [100] Schomacker, K.T., T.M. Meese, C. Jiang, C.C. Abele, K. Dickson, S.T. Sum and R.F. Flewelling, "*Novel Optical Detection Systel for In Vivo Identification and Localization of Cervical Intraepithelial Neoplasia*", Journal of Biomedical Optics **11**(3) 034009 (2006)
- [101] Alvarez, R.D., T.C. Wright, Optical Detection Group, "*Effective Cervical Neoplasia Detection with a Novel Optical Detection System : A Randomized Trial*", Gynecologic Oncology **104** 281-289 (2007)
- [102] Mirabal, Y.N., S.K. Chang, E.N. Atkinson, A. Malpica, M. Follen and R. Richards-Kortum, "*Reflectance Spectroscopy for In Vivo Detection of Cervical Precancer*", Journal of Biomedical Optics **7** 4 587-594 (2002)
- [103] Georgakoudi, I., E.E. Sheets, M.G. Müller, V. Backman, C.P. Crum, K. Badizadegan, R.R. Dasari, and M.S. Feld, "*Trimodal Spectroscopy for the Detection and Characterization of Cervical Precancers In Vivo*", American Journal of Obstetrics and Gynecology **186** 3 374-382 (2002)

- [104] Bordier, C., "*Diffusion de la Lumière par des Tissus Biologiques : Etude Expérimentale et Modélisation par l'Equation de Transfert Radiatif Vectorielle*", Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris (2007)
- [105] Gurjar, R.S., V. Backman, L.T. Perelman, I. Georgakoudi, K., Badizadegan, I. Itzkan, *et al.*, "*Imaging Human Epithelial Properties with Polarized Lightscattering Spectroscopy*", *Nature Medine* **7** 1245-1248 (2001)
- [106] Balas, C., "*A novel optical imaging method for the early detection, quantitative grading, and mapping of cancerous and precancerous lesions of cervix.*", *IEEE Transactions Biomedical Engineering* **48** 96-104 (2001)
- [107] Jacques, S.L., J.C. Ramella-Roman, K. Lee, "*Imaging Skin Pathology with Polarized Light*" *Journal of Biomedical Optics* **7** 329-340 (2002)
- [108] Displaytech, "*Ferroelectric Liquid Crystal Light Valves*", Displaytech Inc., Manuel d'utilisation, Longmont (2004)

Annexe A : Protocole de l'essai clinique

Les principales caractéristiques du protocole de l'essai clinique sont citées par la suite.

Objectifs de la recherche

Objectif principal

L'objectif principal de cette étude consiste à montrer qu'il y a une meilleure sensibilité et spécificité avec le diagnostic optique par imagerie polarimétrique *in vivo* qu'avec le diagnostic optique par colposcopie classique. Les valeurs prédictives positives et négatives des deux techniques seront également comparées. La biopsie histologique, orientée par l'une ou l'autre des deux techniques servira de test comparatif présentant la résolution spatiale nécessaire pour que la comparaison de ces techniques d'imagerie soit réellement significative.

Objectif secondaire

L'objectif secondaire de cette étude est de déterminer ces mêmes indicateurs de performance à partir des images enregistrées et en prenant comme test comparatif l'étude anatomopathologique des conisations. Ce deuxième type d'évaluation peut a priori permettre d'établir des statistiques sur un nombre bien plus important de sites qu'à partir des seules biopsies, mais sa significativité dépendra de la précision de la localisation des lésions retrouvées à l'examen histologique des conisations sur les images enregistrées au cours des examens *in vivo*.

Type de l'étude

Il s'agit d'une étude monocentrique à l'Institut Mutualiste Montsouris, avec la perspective d'ouvrir un deuxième centre à l'hôpital de Montreuil.

Critères d'inclusion et de non inclusion

Critères d'inclusion

Seront incluses dans l'étude les patientes majeures ayant un frottis cervico-vaginal pathologique et en mesure de donner leur consentement.

Critères de non inclusion

Ne seront pas incluses dans l'étude :

- les femmes enceintes,
- les patientes non affiliées à un régime de protection sociale,
- les patientes déjà incluses dans un protocole de recherche clinique et
- les patientes sous anticoagulants.

Nombre de patientes incluses

Le dimensionnement de l'étude se fonde sur l'objectif principal, c'est-à-dire la mise en évidence d'une supériorité métrologique de la polarimétrie sur la colposcopie classique dans son aptitude à détecter justement les zones d'histologie anormales, en prenant comme référence l'histologie des biopsies. Aussi cherchera-t-on à montrer à la fois une meilleure sensibilité et une meilleure spécificité de la polarimétrie.

Pour l'amélioration de la spécificité, nous nous donnons pour objectif de démontrer la plus grande spécificité de la polarimétrie comparativement à la colposcopie avec une probabilité de 80% (puissance) si la spécificité de la polarimétrie atteint 80%¹, une valeur attendue plausible, la spécificité de la colposcopie classique étant supposée de 60%.

Quant à l'amélioration de la sensibilité, en supposant une sensibilité de la colposcopie de 60% et de la polarimétrie de 90%², nous visons une mise en évidence d'une différence de sensibilités avec une probabilité de 80%.

Pour démontrer les différences citées ci-dessus, selon les détails statistiques décrites dans l'annexe, il est proposé a priori d'inclure 138 femmes. Une analyse intermédiaire sera réalisée lorsque la moitié de l'information aura été recueillie.

Protocole

Les conditions pratiques de déroulement de l'étude sont les suivantes :

1. Sélection des patientes. Si au cours de l'interrogatoire la patiente satisfait aux critères d'inclusion et ne présente aucun critère de non inclusion, elle sera incluse dans l'étude.
2. Première consultation. Chaque patiente bénéficiera d'une première consultation avec colposcopie classique comprenant l'examen sans préparation, puis la coloration à l'acide acétique à 3% et enfin la coloration au Lugol. Les zones présentant a priori les lésions les plus péjoratives seront identifiées suivant les critères utilisés habituellement en colposcopie (blanchiment à l'acide acétique le plus rapide et le plus net, non-coloration au Lugol) et biopsiées afin d'avoir un diagnostic histologique de certitude du type de dysplasie. Ces zones pourront mesurer plusieurs mm^2 . Des clichés numériques seront pris à chacune des 3 étapes de la colposcopie. Les zones biopsiées seront notées sur les clichés numériques. Un premier diagnostic fondé sur l'apparence colposcopique (N³, TAG1, TAG2) d'une zone prédéfinie (à 12 h, à 5 mm de l'entrée de l'endocol) sera consigné explicitement sur les cahiers d'observation. Enfin, l'investigateur "dessinera" sur les clichés numériques les contours des zones TAG1 et TAG2 éventuelles pour consigner sur ces clichés le diagnostic colposcopique de l'ensemble du col, en vue de la comparaison ultérieure avec la polarimétrie et l'analyse anatomopathologique de la conisation éventuellement pratiquée en fin de parcours.

¹Cette valeur de spécificité attendue résulte d'une étude préliminaire réalisée en DOP sur les conisations de 76 patientes ayant un frottis anormal.

²Valeur de sensibilité attendue qui résulte de la même étude.

³N pour normal.

3. Deuxième consultation. Chaque patiente bénéficiera d'une deuxième consultation, deux semaines après la première, afin de laisser cicatriser les zones biopsiées. L'examen sera effectué cette fois en imagerie polarimétrique comprenant l'examen sans préparation, puis la coloration à l'acide acétique à 3%, à l'exclusion du Lugol. La coloration au Lugol est en effet incompatible avec cet examen, du moins à longueur d'onde de 550 nm qui paraît la plus appropriée pour sonder des épaisseurs de quelques centaines de micromètres de tissu. Si les contrastes polarimétriques mettent en évidence de nouvelles zones a priori anormales (peu dépolarisantes) à plus de 2 mm de distance des biopsies effectuées auparavant sous colposcopie classique, de nouvelles biopsies (typiquement une ou deux, suivant le nombre de nouvelles zones apparues) seront effectuées. En revanche, si les zones peu dépolarisantes sont superposables (à 2 mm près) aux biopsies faites sous colposcopie, aucune nouvelle biopsie de ces zones ne sera effectuée. Des clichés numériques seront pris à chacune des 2 étapes (sans préparation et à l'acide acétique) de l'examen en polarimétrie. Les biopsies guidées par polarimétrie seront notées sur les clichés numériques. La zone prédéfinie citée plus haut (à 12h, 5 mm de l'entrée de l'endocol) fera l'objet d'un nouveau diagnostic (normal ou suspect), fondé sur l'image polarimétrique, consigné explicitement dans le cahier d'observation et sera ensuite biopsiée systématiquement (sauf si elle l'a été précédemment). Pour chacune des biopsies, dirigées ou non, on disposera ainsi des deux diagnostics optiques (colposcopie et polarimétrie), à confronter à l'examen histologique qui reste le gold standard.
4. Les diagnostics histologiques seront faits par l'analyse au microscope selon les références du laboratoire d'anatomo pathologie de l'Institut Mutualiste Montsouris (équipe du Dr. Pierre Validire), permettant les diagnostics de dysplasie et son degré, de carcinome avec son type et son degré d'infiltration ou le cas échéant de l'absence d'anomalie.
5. Troisième consultation. Les résultats seront communiqués à la patiente, et la suite de la prise en charge sera définie.
6. Une analyse statistique (effectuée par l'Unité de Recherche Clinique de la Pitié Salpêtrière) comparera la concordance entre les diagnostics optiques et les diagnostics histologiques de l'épithélium malpighien pour chaque technique. Seront ainsi calculés les indicateurs de performance des deux techniques. Pour la colposcopie, ce calcul sera effectué de deux manières, en regroupant soit les N et les TAG1, soit les TAG1 et les TAG2.
7. Les patientes dont le diagnostic de dysplasie de haut grade ou d'anomalie histologique plus sévère aura été porté à l'un ou l'autre des examens ou même simplement au frottis cervico-vaginale bénéficieront d'une conisation au bloc ambulatoire. Celles-ci seront faites selon les recommandations des sociétés savantes et de la Haute Autorité de Santé. Les patientes bénéficieront d'une consultation avec un médecin anesthésiste et d'un bilan préopératoire. Les conisations seront faites, sous courte anesthésie générale, sous contrôle colposcopique avec section laser. Un repérage de la pièce opératoire ainsi que des clichés numériques seront transmis aux pathologistes.
8. Une analyse histologique détaillée comprenant au moins 8 plans de coupe précisera le type de pathologie retrouvée, sa localisation (en forme d'un cadran d'horloge) et sa taille en profondeur et en surface.
9. Une nouvelle analyse statistique comparera la sensibilité et la spécificité de chaque technique optique en comparant leurs résultats avec l'analyse de la conisation comme gold standard

Critères d'évaluation

Critères principaux

En liaison avec l'objectif principal de cette étude, le critère d'évaluation principal sera la comparaison des sensibilité et spécificité de l'imagerie polarimétrique in vivo et de la colposcopie classique, ces sensibilité et spécificité étant évaluées pour chacune des deux techniques à partir de l'analyse histologique de biopsies, guidées et non guidées, suivant le protocole défini ci-dessous.

Critères secondaires

Ces critères incluent :

- La comparaison des valeurs prédictives (positives et négatives) de l'imagerie polarimétrique in vivo comparée à la colposcopie classique, toujours à partir de l'analyse histologique de biopsies guidées et non guidées.
- En liaison avec l'objectif secondaire de l'étude, un deuxième critère secondaire sera la comparaison des mêmes paramètres (sensibilité, spécificité et valeurs prédictives), déterminés pour les deux techniques non plus par les biopsies, mais par une étude ancillaire de comparaison entre les images enregistrées lors des consultations et l'évaluation anatomo-pathologique précise des pièces de conisation, sur au moins huit plans de coupe.

Les paramètres d'évaluation incluent :

- les impressions en colposcopie classique (N, TAG1, TAG2),
- l'aspect, normal ou anormal, en polarimétrie (à ce stade il semble difficile d'aller au-delà d'un simple choix binaire)
- les résultats de l'analyse histologique des biopsies, utilisés comme gold standard.

Pour l'étude liée à l'objectif secondaire on remplacera l'étude histologique des biopsies par celle des conisations comme gold standard.

Cahier d'observation

Les données recueillies dans le cahier d'observation ressortissent aux champs suivants :

- Informations démographiques standard des patientes.
- Vérification des critères d'inclusion comportant notamment une documentation des anomalies du frottis cervico vaginal justifiant la colposcopie, sa date de réalisation.
- Informations issues du compte rendu d'anatomopathologie.
- Antécédents gynécologiques.
- Traitements concomitants.
- Informations recueillies lors du premier examen colposcopique : aspects cliniques, localisation et grades lésionnels des zones biopsiées.
- Informations recueillies lors du second examen colposcopique : aspects cliniques, grades lésionnels des zones biopsiées lors du premier examen, localisation et grades lésionnels des zones nouvellement biopsiées, et de la zone systématiquement biopsiée.
- Informations recueillies lors de la troisième visite : aspects cliniques, statut par rapport à la conisation, le cas échéant renseignements sur la conisation.
- Adjonction sur feuille annexe ou intégration au cahier des éléments constitutifs des rapports d'anatomopathologie portant sur les biopsies et le cas échéant les conisations.

Annexe B : Mise en place d'une expérience de caractérisation des milieux diffusants

En ce qui concerne la gynécologie, bien qu'il soit utilisé depuis plus de 50 ans, le blanchissement des lésions dysplasiques à l'acide acétique n'est pas toujours parfaitement expliqué. On a longtemps évoqué une dénaturation des protéines, plus abondantes dans les zones dysplasiques qu'ailleurs. Cependant un tel effet serait irréversible, alors que dans la pratique le blanchissement apparaît et disparaît à l'échelle de la minute.

En réalité, le blanchissement des tissus correspond à une augmentation de l'efficacité de rétrodiffusion de la lumière par différentes structures, telles que les membranes, les organelles (par exemple les mitochondries) et les noyaux. En effet, si la lumière est renvoyée plus efficacement vers l'arrière elle pénètre moins dans le tissu et se colore donc moins en rouge du fait de l'absorption du bleu par l'hémoglobine. Des études en microscopie confocale en réflexion (sans polarisation) ont effectivement montré que les noyaux cellulaires, invisibles sans coloration spécifique, apparaissent nettement quand on ajoute de l'acide acétique [79]. Cette visibilité correspond bien à une augmentation de l'efficacité de la rétrodiffusion de la lumière vers l'observateur en présence d'acide acétique. Les noyaux étant plus gros et plus nombreux dans les zones dysplasiques, celles-ci vont blanchir davantage que les zones saines. Ceci étant, pour optimiser la sensibilité et la spécificité de cette technique il faut 'extraire' la contribution des noyaux de celle des autres structures (membranes cellulaires, mitochondries etc.), qui peuvent également devenir plus diffusantes en présence d'acide acétique.

L'hypothèse essentielle à la base de cette étude est la suivante : en jouant sur la polarisation de la lumière on doit pouvoir extraire la contribution des noyaux dans la rétrodiffusion de la lumière de manière plus sensible et plus spécifique que par l'imagerie classique en intensité. Cette hypothèse est confortée par des études sur la rétrodiffusion de lumière polarisée par des suspensions de billes de tailles connues et de cellules, saines ou cancéreuses [41], ainsi que par les études déjà citées, en dermatologie notamment.

Résultats expérimentaux sur des suspensions de billes de polystyrène

Inspirés par la recherche dans ce domaine, nous avons voulu monter notre propre dispositif. Le montage expérimental utilisé afin de mesurer dans un premier temps la matrice de Mueller des solutions de billes de polystyrène de tailles différentes est présenté sur la figure 1.

Nous éclairons avec un laser hélium néon à 633 nm le centre d'une cuvette en verre non biréfringent et nous regardons sur une caméra CCD la lumière rétrodiffusée de l'ensemble de la cuvette. Pour moduler la polarisation de la lumière nous avons utilisé un polariseur et un

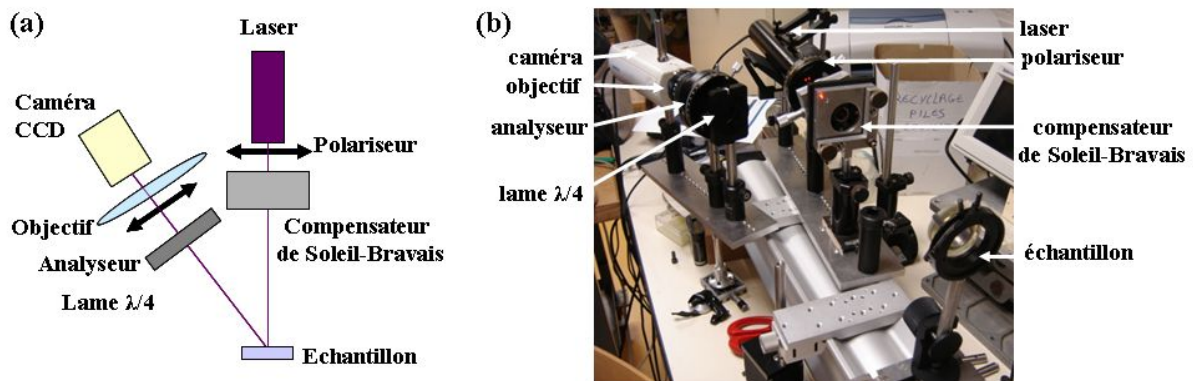


FIG. 1 – Montage expérimental pour la matrice de Mueller des solutions.

compensateur de Bravais-Soleil du côté de l'incidence, devant le laser et pour analyser la polarisation de la lumière rétrodiffusée nous avons utilisé le schéma d'une lame de retard $\lambda/4$ suivi par un polariseur. De cette manière nous pouvons obtenir tous les états de polarisation (horizontal/vertical, $\pm 45^\circ$, circulaire gauche/droite). Avec une combinaison linéaire de différents états de polarisation à l'entrée et à la sortie, nous pouvons obtenir les 16 éléments de la matrice de Mueller [41]. Les résultats pour des solutions de billes de polystyrène de deux tailles différentes, respectivement 100 nm et 3 μm , sont représentés sur la figure 2.

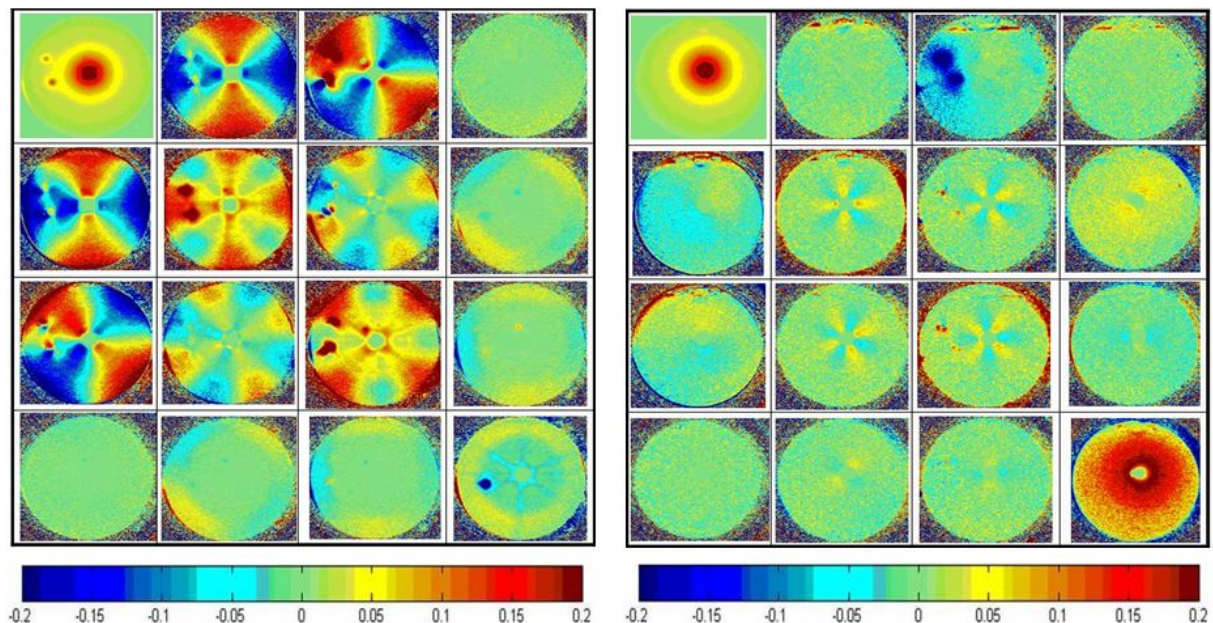


FIG. 2 – Matrices de Mueller des billes de taille de 100 nm (à gauche) et de 3 μm (à droite).

Nous constatons que les diffuseurs de taille différente ont une signature polarimétrique différente. Les particules de taille inférieure de la longueur d'onde (100 nm), appartenant au régime de diffusion Rayleigh, présentent une forte diatténuation (éléments M_{12} et M_{13} de la matrice de Mueller) et une forte polarisance (éléments M_{21} et M_{31}), tandis que leur réponse à la polarisation circulaire est quasi nulle (quatrième ligne et colonne de la matrice de Mueller). De l'autre côté, les particules de taille supérieure de la longueur d'onde (3 μm), qui appartiennent au régime de diffusion de Mie, ne présentent ni de diatténuation, ni de polarisance, mais une forte réponse à la polarisation circulaire (élément M_{44} de la matrice de Mueller).

Nous avons démontré alors qu'il y a moyen par polarimétrie de distinguer la contribution de grandes par les petites particules dans la lumière rétrodiffusée. Si nous considérons que

justement ce qui distingue un tissu cancéreux par un tissu sain c'est notamment l'augmentation de la taille et du nombre des noyaux et si on suppose que cette augmentation de taille correspond à un passage du régime de diffusion Rayleigh au régime de diffusion de Mie, c'est quelque chose que nous savons distinguer en polarimétrie.

Simulation théorique pour des diffuseurs de taille différente

Nous avons par la suite voulu avoir un outil théorique d'un côté pour mieux comprendre l'interaction de la lumière polarisée avec les tissus et d'un autre côté pour pouvoir prévoir ce comportement avant l'expérience. Pour cela on a récupéré un code de Monte Carlo en C (Xhou Ming, New York), lequel Steve Guyot a transformé de 1D à 2D. On a encore modifié les angles d'incidence, ainsi que les angles de détection afin de les ajuster à la géométrie de notre montage expérimental décrit par dessus. On considère le diamètre du faisceau ponctuel et on tire au sort la distance entre des évènements consécutifs. En fonction de la taille de la particule on calcule sa fonction de phase et ensuite l'angle de sa propagation après chaque évènement. Les résultats pour des diffuseurs de taille de 200 nm sont représentés sur la figure 3. Pour cette taille des particules, nous sommes toujours à un régime de diffusion Rayleigh et les résultats sont comparables avec ceux obtenus expérimentalement pour des billes de 100 nm de diamètre. L'accord est remarquable non seulement pour les éléments de la matrice de Mueller qui sont nulles ou pas, mais aussi au niveau de la direction des lobes à l'intérieur de chaque élément.

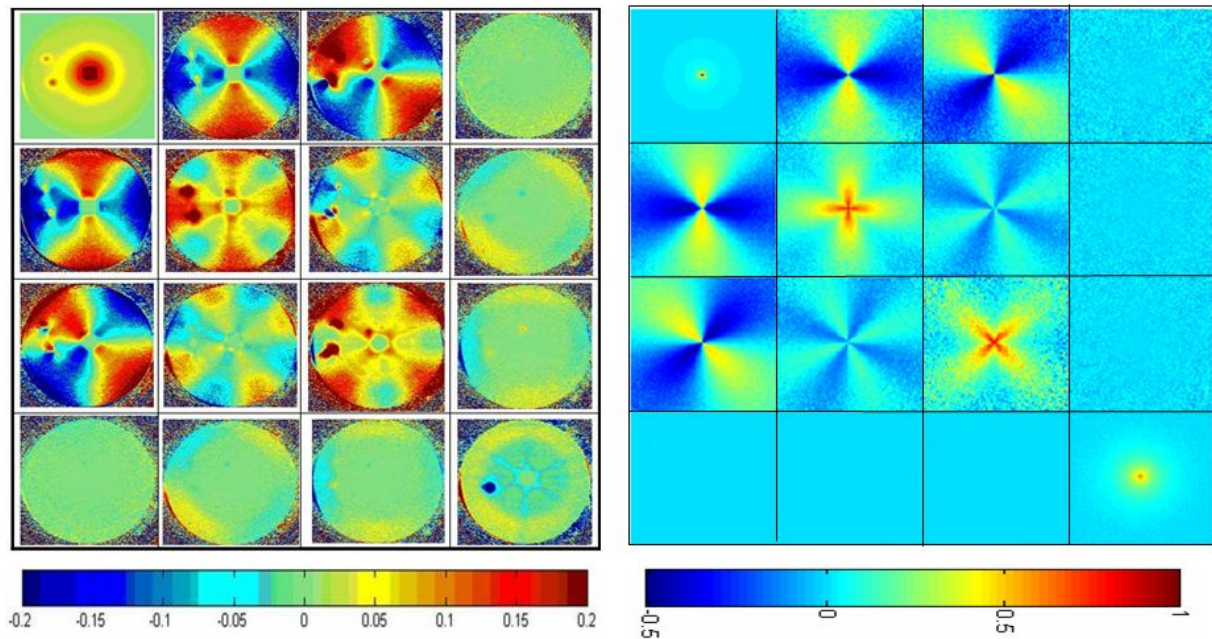


FIG. 3 – Matrice de Mueller expérimental des billes de polystyrène de taille de 100nm (à gauche) et matrice de Mueller théorique des diffuseurs de taille de 200 nm (à droit).

Annexe C : Glossaire Biomédicale

Ces définitions sont majoritairement extraites (et parfois simplifiées) du Grand Dictionnaire Terminologique de l'Office Québécois de la Langue Française en ligne des sites <http://www.granddictionnaire.com> et <http://fr.wikipedia.org>.

A

Abcès = Amas de pus collecté dans une cavité formée par destruction nécrotique ou re-foulements des tissus environnants. ♦ Toute espèce d'enflure.

Amputation = Ablation d'un membre ou d'un segment de membre par intervention chirurgicale.

Anémie = Trouble hématologique qui provoque la diminution de la concentration d'hémoglobine dans le sang en deçà des valeurs normales.

Aplasie Médullaire = Disparition des cellules médullaires hématopoïétiques, entraînant une insuffisance médullaire globale.

Artériole = Vaisseau sanguin de petit calibre, qui correspond à la dernière ramification d'une artère et qui conduit le sang vers les capillaires artériels.

Atteinte = Dégradation de l'état d'un organe ou d'une fonction.

B

Bactériémie = Présence de bactéries dans le sang, éphémère, sans manifestations cliniques graves.

C

Capillaire = Vaisseau sanguin de très petit calibre dont la paroi, constituée d'une unique couche de cellules épithéliales, permet les échanges entre le sang et les tissus.

Carcinogène = Cancérigène, cancérigène, se dit d'un virus, d'une substance, d'une irradiation etc. qui peut provoquer ou favoriser l'apparition d'un cancer.

Carcinome Malpighien = Carcinome qui se développe aux dépens des tissus épithéliaux sains constituant les revêtements malpighiens. Les revêtements malpighiens sont la peau, les annexes de la peau (épithéliums malpighiens kératinisés) et les muqueuses malpighiennes (épithéliums malpighiens non kératinisés : oesophage, cavité buccale, vagin, rectum).

Cellule Prismatique = Cellule épithéliale ayant la configuration d'un cylindre qui prend la forme d'un prisme hexagonal.

Cellule Souche = Cellule non différenciée, issue de l'embryon, du fœtus ou de tissus adultes, qui possède à la fois la capacité de se multiplier par divisions successives pendant une période indéfinie, et celle de donner naissance, dans des conditions déterminées, à une ou à plusieurs lignées d'éléments cellulaires différenciés. Il existe différents types de cellules souches, dont les capacités de différenciation varient : certaines sont capables de donner naissance à un organisme complet (cellules souches totipotentes), d'autres à tous les types de cellules différenciées d'un organisme, sans toutefois pouvoir donner naissance à l'organisme dans sa totalité (cellules souches pluripotentes, ou embryonnaires), d'autres encore uniquement à certains types de cellules différenciées (cellules souches multipotentes) et, enfin, certaines ne peuvent produire qu'un seul type de cellules différenciées (cellules souches unipotentes). La capacité d'autorenouvellement des cellules souches leur permet d'assurer une réserve permanente de cellules initiales. ♦ Le terme cellule indifférenciée est plus descriptif que cellule souche et son emploi est moins précis, car il est souvent donné comme synonyme de plusieurs termes désignant des types particuliers de cellules souches.

Céphalée = Sensation douloureuse localisée à la tête. La céphalée peut être un symptôme d'une autre affection ou une maladie en soi. Le plus souvent bénignes, les céphalées peuvent aussi comporter un caractère d'urgence.

Clairance = Rapport entre le débit urinaire par minute d'une substance et sa concentration dans le plasma.

Comorbidité = Existence concomitante d'une affection ou d'un facteur qui n'est pas lié à la maladie pour laquelle une personne reçoit des soins, mais qui a des conséquences sur les chances de survie du malade.

Condylome Acuminé = Néoformation d'origine virale, auto- et hétéro-inoculable (en général par contact vénérien), localisée au niveau des muqueuses génitales.

Congestion Active = Hyperémie active, Accumulation excessive de sang dans les vaisseaux d'un organe, Afflux anormal d'origine physique, chimique ou infectieuse.

D

Dépilation = Perte ou chute des poils, qu'elle soit naturelle (calvitie), pathologique (perte de la pilosité normale dans la cirrhose, par exemple) ou artificielle (provoquée par une radiothérapie, par exemple).

Desquamation = Éviction de la couche cornée sous forme de squames d'aspect variable ; consécutive à un processus pathologique. ♦ Apparition de squames sur la peau, par exfoliation

de l'épiderme. Exfoliation de l'épiderme sous forme de squames pulvérulentes ou de plaques plus ou moins étendues. Élimination de la couche épithéliale superficielle. ♦ Dégénérescence ou destruction, sous forme de fines lamelles, des couches superficielles les plus kératinisées de l'épiderme.

Détersion = Action de nettoyer la surface d'une plaie au moyen d'applications externes d'agents détersifs et de pansements pour favoriser le bourgeonnement et la cicatrisation.

Différenciation = Transformation en cellules spécialisées dans une ou plusieurs fonctions de cellules produites par des cellules souches peu différenciées de l'organisme adulte. ♦ Transformation d'un élément embryonnaire n'exerçant aucune fonction apparente, en un élément spécialisé dans une fonction déterminée.

Dyskaryose = Irrégularité de la forme et du volume du noyau d'une cellule. Une dyskaryose légère correspondrait à la CIN I, une dyskaryose moyenne à la CIN II et une dyskaryose sévère à la CIN III.

E

Extravasation de Protéines = Passage de protéines dans les tissus causé par la modification anatomique (rupture ou lésion) d'un vaisseau ou d'un organe dans lequel il circule.

F

Facteur de Croissance = Molécule sécrétée par certaines cellules et qui, en se fixant sur des récepteurs membranaires, ont pour fonction de stimuler les divisions d'une population donnée de cellules.

Fibroblaste = Cellule fixe du tissu conjonctif, fusiforme ou étoilée, responsable de la formation des fibres collagènes, réticuliniques ou élastiques et de l'élaboration de la plupart des composants de la substance fondamentale.

G

Glandulaire = La fonction glandulaire est le fait qu'une cellule soit capable de sécréter une substance qui sera excrétée hors de l'organe où elle est produite : soit dans le sang (glande endocrine), soit en dehors de l'organisme (glande exocrine comme les glandes sudoripares, les glandes mammaires etc.).

H

Hématopoïèse = Ensemble des processus par lesquels les cellules souches totipotentes de la moelle osseuse se multiplient, se différencient et aboutissent à des cellules sanguines matures. Les différentes cellules sanguines matures du sang sont les globules rouges, les globules blancs

(incluant les granulocytes, les lymphocytes et les monocytes) et les plaquettes. Le développement de ces différents types de cellules se nomme respectivement l' "érythropoïèse", la "leucopoïèse" (incluant la "granulopoïèse", la "lymphopoïèse" et la "monocytopoïèse") et la "thrombopoïèse".

Homéostasie = Recherche d'équilibre dans l'organisme. ♦ Retour à la satisfaction d'être.

I

Ischémie = Arrêt ou diminution de l'apport sanguin artériel dans un tissu ou un organe.

K

Kératinocyte = Toute cellule de l'épiderme, de l'assise basale aux couches les plus superficielles, qui évolue vers la maturation kératosique.

Koïlocyte = Les koïlocytes (du grec koïlos = creux) sont pathognomoniques des infections à papillomavirus (HPV). Ce sont des cellules superficielles ou intermédiaires (riches en glycogène) de l'épithélium malpighien qui ont une cytologie modifiée à savoir : le noyau (voire les noyaux), siège de la multiplication des virions avec une taille augmentée, une chromatine de texture homogène hyperchromatique, et un halo périnucléaire bien marqué correspondant à une zone de nécrose cytoplasmique.

L

Lambeau Pédiculé = Fragment de peau, de muscle ou parfois d'épiploon, de forme variable, qui n'est plus solidarisé avec ses tissus d'origine que par l'intermédiaire d'un pédicule nourricier, utilisé en chirurgie plastique pour combler certaines pertes de substance lorsque la plaie ne peut cicatriser spontanément.

Leucocyte = Cellule mature et nucléée du sang circulant, qui a pour fonction de défendre l'organisme contre l'infection. On classe sous cette appellation plusieurs types de cellules qui se distinguent par leur importance, leur répartition, leur nombre, leur durée de vie et leur potentialité. Ces types sont les suivants : les polynucléaires ou granulocytes, parmi lesquels on retrouve les éosinophiles, les neutrophiles et les basophiles, et les mononucléaires, qui incluent les lymphocytes et les monocytes. ♦ Synonyme : globule blanc.

Leucopénie = État dans lequel le nombre des leucocytes (globules blancs) descend en dessous de la normale.

Lignée Cellulaire = Ensemble des cellules provenant d'une même cellule-mère.

Lipoprotéine = Protéine dont la molécule est associée par des liaisons physiques ou chimiques à des lipides et est donc un résultat de la combinaison de triglycérides, de phospholipides et de cholestérol avec des protéines.

Lymphocyte = Leucocyte mononucléaire présent dans le sang, la lymphe, la moelle osseuse et les organes lymphoïdes. Le lymphocyte correspond à la cellule finale de la lignée lymphocytaire. Contrairement aux autres cellules du sang, tous les lymphocytes ne sont pas identiques : chacun d'eux ne sait reconnaître qu'un seul antigène qui lui est spécifique. On distingue les lymphocytes B, les lymphocytes T et les lymphocytes à cytoplasme granuleux, ces derniers correspondant aux cellules tueuses naturelles.

M

Macrophage = Cellule qui dérive d'un monocyte ayant quitté la circulation sanguine pour passer dans un tissu et qui joue un rôle important dans l'immunité grâce, notamment, à son pouvoir de phagocytose.

Malin = Se dit d'une maladie ou d'une tumeur qui s'aggrave progressivement et qui est susceptible d'entraîner la mort.

Mastocyte = Cellule dont le cytoplasme contient de nombreuses granulations basophiles, riches en médiateurs (héparine, sérotonine, histamine).

Médullaire = Se dit de certains néoplasmes épithéliaux d'architecture solide. ♦ Relatif à la moelle osseuse ou épinière. ♦ Partie interne d'un organe par opposition à son cortex.

Métaplasie Pavimenteuse = La métaplasie pavimenteuse correspond au remplacement physiologique de l'épithélium cylindrique éversé sur l'exocol par un épithélium pavimenteux nouvellement formé à partir des cellules de réserve situées sous les cellules cylindriques.

Mitose = Mécanisme de division par lequel une cellule donne naissance à deux cellules filles identiques à la cellule mère et possédant le même nombre de chromosomes.

Moelle Osseuse = Tissu qui est présent dans les cavités osseuses et qui joue un rôle dans la production de tous les types de cellules sanguines.

Mononucléaire = Cellule sanguine mononucléée, par opposition aux cellules de la lignée granuleuse dite "polynucléaire". Les mononucléaires comprennent les monocytes et les lymphocytes. ♦ Se dit d'une cellule ne possédant qu'un seul noyau.

Morbidité = Somme des maladies enregistrées pendant une période déterminée, au sein d'une population, s'exprimant sous forme d'incidence ou de prévalence. ♦ Caractère de ce qui est malsain ou malade. ♦ Nombre de personnes malades ou de cas de maladies enregistrées dans une population, à un moment donné, ou pendant une période déterminée. ♦ État de maladie. Résultat de l'exposition d'une personne ou d'un groupe à la maladie.

Mucopolysaccharides = Chacun des groupements polysidiques qui existe à l'état libre ou à l'état combiné sous forme de glycoprotéines (telles que les polysides des mucines et de la substance du tissu conjonctif).

Muqueuse = Tissu mou de revêtement des cavités anatomiques (vagin, estomac, intestin, bouche) généralement composé d'un épiderme superficiel et d'un derme profond conjonctif

comprenant plusieurs couches. Membrane formée d'un épithélium cylindrique ou pavimenteux, tapissant la paroi interne des cavités naturelles et de la plupart des organes creux.

N

Néoplasie = Néoplasme, tumeur.

O

Occlusion = Rapprochement physiologique ou pathologique des bords d'une ouverture naturelle.

Oedème = Infiltration séreuse excessive, indolore et sans rougeur des tissus conjonctifs sous-cutanés et sous-muqueux, dont l'étiologie peut être traumatique, chirurgicale, infectieuse ou métabolique et qui répond positivement au signe du godet.

Oncogène = Gène qui, après avoir subi une mutation, code pour une protéine stimulant à l'excès la division cellulaire ou encore pour une forme active de cette protéine, produisant ainsi une prolifération anarchique des cellules à l'origine du processus de cancérisation. Les oncogènes peuvent être apportés par des virus (oncogènes viraux ou onc-v), ou préexister dans le génome des cellules normales de l'organisme (oncogènes cellulaires ou onc-c). Ils peuvent être activés par les différents facteurs environnementaux connus comme inducteurs des cancers. Les oncogènes revêtent un intérêt indéniable dans le domaine biomédical. En effet, comme certains oncogènes codent pour des protéines détectables hors de la cellule ou dans le sang, celles-ci sont en fait de véritables marqueurs tumoraux qui permettent de localiser les tumeurs en développement ; elle peuvent donc être utilisées à des fins diagnostiques ou conduire au développement d'agents thérapeutiques spécifiques aux cellules cancéreuses.

P

Paroxysme = Le plus haut degré d'une sensation ou d'un symptôme.

Phlyctènes = Soulèvement de l'épiderme rempli de sérosité transparente.

Phosphorylation = Fixation d'acide phosphorique sur un substrat, catalysée dans la cellule par des kinases.

Pigmentation = Accumulation en ordre dispersé de substances protidiques, bio-chimiques ou même métalliques dans les tissus externes, ce qui change leur coloration et leur aspect. Accumulation, dans une ou plusieurs couches de la peau, de pigments donnant une certaine teinte à celle-ci, que ce soit localement ou de manière générale.

Plexus = C'est un ensemble de nerfs ou de vaisseaux sanguins.

Polynucléaire = Leucocyte qui contient des granulations neutrophiles, basophiles ou éosinophiles dans son cytoplasme et qui possède un noyau à plusieurs lobes.

Prolifération = Multiplication rapide de cellules ou de micro-organismes. La prolifération cellulaire s'accompagne parfois de l'apparition d'une certaine anarchie de structure, pouvant aller jusqu'à la perte de la forme et de propriétés caractéristiques. Des proliférations cellulaires s'observent notamment au cours de processus de nature inflammatoire ou tumorale. Ce phénomène, normal au cours du développement et de la croissance pour la plupart des tissus et d'une façon permanente pour certaines lignées cellulaires (éléments figurés du sang, lignée spermatique, etc.), devient anormal dans certaines conditions ; il conduit à la formation de tissus néoformés ou néoplasiques. La prolifération d'un agent pathogène est sa multiplication au sein d'un organisme réceptif ou d'une culture.

Pustule = Lésion cutanée élémentaire constituée d'une petite cloque contenant un liquide purulent.

R

Radiodermite = Inflammation de la peau produite par une exposition excessive aux rayons X ou aux rayonnements émis par des substances radioactives. ♦ Lésion cutanéomuqueuse, le plus souvent scléreuse ou ulcéreuse, engendrée par une irradiation fortuite ou professionnelle par les rayons X (on y inclut les accidents de la radiothérapie) et dont le pronostic est grevé d'un haut risque de cancérisation. ♦ Complication tardive de la radiothérapie : érythème, pigmentation, atrophie ou induration de la peau, télangiectasies et parfois ulcérations par radionécrose.

Relargage = Précipitation réversible des protéines par de fortes concentrations de sels minéraux. ♦ Diminution de la solubilité présentée par un sel quand on ajoute à la solution un autre sel soluble.

Réticulaire = En forme de filet.

S

Sang de Cordon = Sang se trouvant dans le placenta utérin et dans le cordon ombilical d'un bébé, qui est très riche en cellules hématopoïétiques.

Sang Périphérique = Sang qui se trouve dans la grande circulation, à l'extérieur du cœur.

Sclérose = Induration pathologique d'un organe, d'un tissu ou d'une lésion due à l'hypertrophie de son tissu conjonctif. ♦ Terme utilisé en histologie pour marquer la formation excessive de collagène.

Séquelle = Toute manifestation persistant après la guérison de la maladie. ♦ Trouble fonctionnel résultant d'une maladie ou d'une intervention chirurgicale. ♦ Suite ou complication plus ou moins tardives et durables d'une maladie. ♦ Infirmité ou impotence plus ou moins permanente qui fait suite à une maladie.

Siccité = Absence d'humidité.

Syndrome = Réunion d'un groupe de symptômes qui se reproduisent en même temps dans plusieurs maladies. ♦ Ensemble bien déterminé de signes et symptômes caractéristiques ou bien d'une maladie particulière ou d'une certaine modalité pathogénique. ♦ Ensemble de symptômes (ou de signes) constituant une individualité clinique mais non étiologique. ♦ Ensemble de symptômes et de signes qui s'observent simultanément et constituent un ensemble utile au diagnostic. ♦ Provient du grec syn = avec, et dromos = action de courir. ♦ Le syndrome se distingue traditionnellement de la maladie par l'absence de cause spécifique. Cette distinction est d'application pratique assez souvent difficile ou arbitraire, d'où un certain malaise dans la définition du terme "maladie" et l'emploi relativement fréquent du mot syndrome au lieu et à la place de celui de maladie. Mot apparu pour la première fois en 1541, dans la traduction anglaise des oeuvres de Galien par Copland. Cependant, un même syndrome peut s'observer dans plusieurs maladies différentes.

Squameux = Qui abonde en squames, lamelles épidermiques qui se détachent facilement de la surface de la peau.

Syndrome de Défaillance Multiviscérale = Syndrome caractérisé par la défaillance de ≥ 2 organes, avec un pronostic d'autant plus sombre que le nombre d'organes atteints est élevé.

Système Lymphatique = Ensemble d'organes constitués d'un tissu lymphoïde, qui a pour fonctions d'évacuer les déchets accumulés par les cellules dans les liquides interstitiels, d'empêcher la prolifération d'agents infectieux et de cellules cancéreuses et de prévenir les œdèmes. Le système lymphatique fait partie du système immunitaire. Il inclut la rate, le thymus, un réseau de vaisseaux ponctués de ganglions, les amygdales et la lymphe.

Systémique = Qui se rapporte à la grande circulation ou aux cavités cardiaques gauches. ♦ Qui se rapporte à un système. Se dit d'une affection qui atteint électivement les éléments constitutifs d'un tissu ou d'un système (conjonctif, osseux, lymphoïde, réticulo-endothélial, etc.).

T

Télangiectasie = Dilatation pathologique et permanente de certains petits vaisseaux de la peau et des muqueuses, dont le trajet devient visible à l'oeil nu, sous forme de traînées linéaires (chevelu capillaire), de fins réseaux, de plaques circonscrites, ou d'étoiles vasculaires et qui disparaît à la vitropression. ♦ Dilatation congénitale ou acquise d'un petit vaisseau du derme. Toujours multiples, les télangiectasies se présentent sous forme d'un fin réseau rouge à mailles plus ou moins larges, s'effaçant à la vitropression. ♦ Groupe de gros capillaires dilatés en réseau ou en étoile, formé surtout au visage par certains troubles de la circulation. ♦ Dilatation des petits vaisseaux, notamment du nez et des pommettes, ou inflammation locale. Affection de la peau, acné, couperose, kératose, lupus. Du grec "têle", loin, "aggeion", vaisseau, et "ektasis", dilatation.

Thrombopénie = Réduction de la teneur en plaquettes dans le sang. Elle peut être constitutionnelle ou acquise, due à une insuffisance quantitative ou qualitative de leur production, à leur destruction exagérée ou à leur répartition anormale. Elle se manifeste par des hémorragies internes ou externes. La chimiothérapie est l'une des causes principales de la thrombopénie.

Tissu Conjonctif = Tissu qui supporte et relie les organes et les autres structures du corps.

Tropisme = Affinité d'un agent infectieux ou parasitaire, ou, encore, d'un médicament pour agir électivement sur un règne, un genre, une famille, une espèce, un organe, un tissu ou un type cellulaire.

Turgescence = Gonflement d'un organe dû à un afflux de sang.

U

Ulcération = Lésion cutanée ou muqueuse provoquant nécrose et perte tissulaire. Destruction plus ou moins superficielle de la peau ou de la muqueuse et comportant une perte de substance. C'est d'abord une plaie minime, peu profonde, mais qui ne tarde pas à s'étendre et à se creuser, en s'entourant d'un bourrelet de consistance ferme. Perte de substance tégumentaire, déterminant une solution de continuité. Formation des ulcères.

V

Veinule = Vaisseau sanguin de petit calibre, qui reçoit le sang des capillaires veineux et qui, avec d'autres veinules, va donner naissance à une veine.

Verrue = Petite excroissance épidermique faisant relief sur le tégument.